

KARLOS ALEXANDRE DE SOUSA VILARINHO

**DESENVOLVIMENTO DE MODELO
EXPERIMENTAL DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA
EM COELHOS**

CAMPINAS

Unicamp

2008

KARLOS ALEXANDRE DE SOUSA VILARINHO

**DESENVOLVIMENTO DE MODELO
EXPERIMENTAL DE INSUFICIÊNCIA CARDÍACA
EM COELHOS**

Dissertação de Mestrado apresentada à Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas para Obtenção do título de Mestre em Cirurgia, Área de Concentração Pesquisa Experimental.

ORIENTADOR: PROF. DR. ORLANDO PETRUCCI JUNIOR

CAMPINAS

Unicamp

2008

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE CIÊNCIAS MÉDICAS DA UNICAMP**

Bibliotecário: Sandra Lúcia Pereira – CRB-8ª / 6044

Vilarinho, Karlos Alexandre de Souza

V71d

Desenvolvimento de modelo experimental de insuficiência cardíaca em coelhos / Karlos Alexandre de Sousa Vilarinho. Campinas, SP : [s.n.], 2008.

Orientador : Orlando Petrucci Junior

Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual de Campinas.
Faculdade de Ciências Médicas.

Título em inglês : Experimental model of heart failure in rabbits

Keywords: • Heart failure
• Cardiomyopathies
• Myocardial Contraction

Titulação: Mestre em Cirurgia

Área de concentração: Pesquisa Experimental

Banca examinadora:

Prof. Dr. Orlando Petrucci Junior

Prof. Dr. Paulo José Ferreira Tucci

Prof. Dr. José Walter Gomes

Data da defesa: 30 - 07 - 2008

Banca Examinadora da Dissertação de Mestrado

Karlos Alexandre de Souza Vilarinho

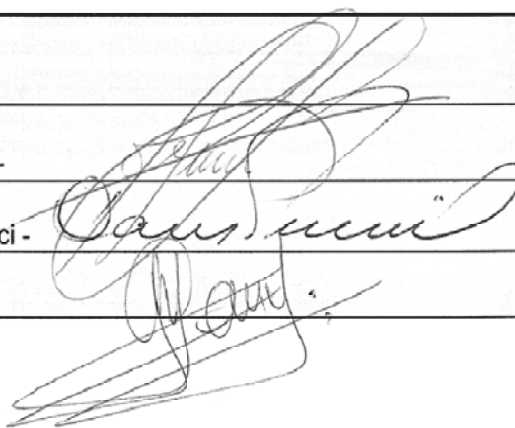
Orientador: Prof. Dr. Orlando Petrucci Júnior

Membros:

1. Prof. Dr. Orlando Petrucci Júnior -

2. Prof. Dr. Paulo José Ferreira Tucci -

3. Prof. Dr. Walter José Gomes -



Curso de Pós-Graduação em Cirurgia da Faculdade de Ciências Médicas
da Universidade Estadual de Campinas.

Data: 30/07/2008

DEDICATÓRIA

**“Existem apenas duas maneiras de ver a vida.
Uma é pensar que não existem milagres e a outra é pensar
que tudo é um milagre”**

(Albert Eistein)

A DEUS

**“Que riqueza não é, até entre os pobres, ser filho
de um bom pai”**

(Juan Luis Vives)

**A meu pai, Joaquim, que sempre me apoiou, pai
exemplar, pessoa exemplar, eterno dedicado aos filhos, no
qual sempre procuro me espelhar.**

**“O futuro de um filho é sempre obra de sua
mãe”**

(Napoleão Bonaparte)

**À minha mãe, incansável mãe, sempre presente,
sempre batalhadora, da qual muito me orgulho de ser filho.**

DEDICATÓRIA

“Apenas vos falta um ser, e tudo está despovoado...”

(Lamartine)

À minha esposa Maria Cristina, razão da minha vida, exemplo de mulher em todos os seus aspectos, sem a qual jamais serei completo.

“Quando eu disse ao caroço de laranja que dentro dele dormia um laranjal inteirinho, ele me olhou estupidamente incrédulo”

(Hermógenes, Mergulho na Paz)

Ao meu filho Miguel, depositário de meus sonhos e esperanças. Que um dia ele se orgulhe de mim como eu me orgulho de meu pai.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Orlando Petrucci Junior, meu orientador, orientador exemplar, não só nesta tese, como em todos aspectos da vida. Modelo de pessoa, profissional, pai, professor, amigo. Em quem, ainda nos primórdios de minha vida como médico, meu pai confiou a minha formação e orientação. A quem muito devo de meu desenvolvimento profissional, acadêmico e pessoal, sempre me mostrando o caminho a ser seguido. Todos os agradecimentos sempre serão insuficientes para expressar toda minha gratidão.

Ao Prof. Dr. Reinaldo Wilson Vieira, exemplo a ser seguido. Verdadeiro professor, em toda a essência da palavra. Verdadeiro líder, desprovido de orgulho próprio e cheio de orgulho da equipe que é sua cria. É pelo desprendimento e amor com que sempre nos atende que é o “paizão” de nossa equipe.

Ao Dr. Pedro Paulo, exemplo profissional, excelente cirurgião, sempre sereno e centrado, sempre dedicado. Responsável por muito de minha formação profissional, não só no aspecto técnico, mas humano.

Ao Dr. Lindemberg, grande médico e cirurgião, onde vejo a semente do grande professor, sempre disposto a ouvir e discutir.

À Dra. Elaine Soraya, companheira de todas as batalhas, seja no ataque ou na defesa. Trabalhadora incansável, exemplo de perseverança e dedicação ao paciente, que sempre ouviu minhas queixas e elogios como grande amiga que é.

Ao Dr. Carlos, sempre empenhado e dedicado aos pacientes e à disciplina, sempre disposto a fazer sacrifícios para o bem-estar do grupo.

Ao Dr. Abrão Abdala Filho, pela sua amizade, trabalho e companheirismo.

Ao Prof. Dr. Otávio Rizzi Coelho, exemplo de professor, sempre apoiando nosso desenvolvimento, nos dando suporte nas difíceis decisões do nosso dia-a-dia, sempre nos chamando de volta à razão.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Domingo Marcolino Braile, que sempre me incentivou e me fez acreditar no grande potencial profissional e pessoal da equipe em que trabalho.

À Srta. Ana Cristina e ao Sr. William, biólogos do Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental, ao Sr. Benedito e ao Sr. Miguel, companheiros, amigos, sempre dispostos à realização de experimentos, sempre interessados na pesquisa experimental, sempre apoiando nos momentos de desânimo e dificuldades, sempre lembrando que pesquisa experimental não é “certezal”. Meus agradecimentos são poucos e minha gratidão é imensa.

Aos perfusionistas Nilson, Márcio e Anali, que sempre nos dão segurança pela sua competência e companheirismo. Ao Nilson, perseverante e acadêmico, sempre eloqüente no seu carinho pela equipe. Ao Márcio, prático e eficaz, sempre bem humorado e divisor de responsabilidades. À Anali, em grande crescimento profissional e acadêmico, orgulho da equipe perfusionista.

Às instrumentadoras Dalva, Lídia e Renata, incansáveis e sempre companheiras. À Dalva, com seu humor e comentários desconcertantes, sempre melhorando o ambiente da sala. À Lídia, sempre direta, com seu riso sempre sincero e grande profissionalismo. À Renata, ainda incrédula em sua real competência.

Aos anestesistas Terezinha, Derli, Eder, Paula, Tazima, Luiz e Lúcia pela sua competência e companheirismo, em todas as horas e batalhas.

Ao Prof. Dr. Kléber Franchini, que gentilmente me recebeu e nos dispôs de seus vastos conhecimentos, e a Dra. Carol Guido, pela sua paciência e disponibilidade.

Ao Prof. Dr. José Vassalo e ao Dr. André Shencka, pela sua pronta disposição e genuína troca de conhecimentos, fazendo jus ao ambiente universitário.

Ao Sr. Paulo Latuff e à Sra. Luzia pela sua presteza e carinho na confecção das peças histológicas.

*Bons resultados são baseados na experiência;
A experiência é baseada em uma série de maus resultados.*

Daniel Waters

SUMÁRIO

	Página
Resumo	xxxiii
Abstract	xxxvii
Introdução	41
Objetivos	51
Material e Métodos	55
Descrição da técnica anestésica e procedimento cirúrgico inicial.....	57
Descrição do estudo hemodinâmico.....	59
Resultados	69
Discussão	99
Conclusão	109
Referências Bibliográficas	113
Anexos	123
Certificado da Comissão de Ética na Experimentação Animal.....	125
Apêndices	127
Dados dos experimentos.....	129

Lista de Abreviaturas

µg/Kg – micrograma por quilograma

µm – micrômetro

bpm – batimentos por minuto

CEEA – Comissão de Ética em Experimentação Animal – Instituto de Biologia – Universidade Estadual de Campinas

DC – débito cardíaco

DDF – diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo

dP/dT – primeira derivada temporal da pressão ventricular

DSF – diâmetro sistólico final do ventrículo esquerdo

EDPVR – relação volume-pressão diastólico final

E_{max} – elastância máxima

FC – frequência cardíaca

FE – fração de ejeção do ventrículo esquerdo

g – grama

GC - grupo controle

GE – grupo estenose

GI – grupo insuficiência

IB – Instituto de Biologia

IC – insuficiência cardíaca

IC 95% – intervalo de confiança de 95%

Kg – quilogramas

LVP(t) – pressão do ventrículo esquerdo no tempo t

LVP₀ – pressão do ventrículo esquerdo no final da sístole

mg – miligrama

mg/Kg – miligrama por quilograma

ml – mililitro

ml/min – mililitro por minuto

ml/mmHg – mililitro por milímetro de mercúrio

mm – milímetro

mmHg – milímetro de mercúrio

mmHg/ml – milímetro de mercúrio por mililitro

mmHg/s – milímetro de mercúrio por segundo

mseg – milissegundo

NMCE – Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas

Pasym – pressão do ventrículo esquerdo escolhida pelo usuário

Peso VE/Coelho – relação entre o peso do ventrículo esquerdo e o peso do coelho

PSRW – trabalho sistólico pré-recrutável

PVA – área total da curva pressão-volume

SNS – sistema nervoso simpático

SRA – Sistema renina-angiotensina-aldosterona

SS – fração de encurtamento do ventrículo esquerdo

UNICAMP – Universidade Estadual de Campinas

VDF – volume diastólico final do ventrículo esquerdo

VE – ventrículo esquerdo

VS – volume ejetado pelo ventrículo esquerdo

VSF – volume sistólico final do ventrículo esquerdo

τ – Tempo de relaxamento isovolumétrico

Lista de Figuras

- Figura 1** – Gráfico da pressão mensurada pelo catéter inserido na artéria carótida direita, progredindo até ventrículo esquerdo. Observar a diferença de pressão entre aorta e ventrículo esquerdo..... 58
- Figura 2** – Demonstração de clipe metálico em aorta ascendente. Coração e aorta, tendo sido ressecado átrios e artéria pulmonar..... 59
- Figura 3** - Foto do estudo hemodinâmico. S–Cranial. I–Caudal. D–Lado direito do coelho. VE–Ventriculo esquerdo. VD–Ventriculo direito. C1 e C2–Cristais sonomicrométricos em paredes anterior e posterior respectivamente. P–Catéter para mensuração de pressão intraventricular esquerda. VCI–Fio de algodão em veia cava inferior. 61
- Figura 4 – Tela do programa CardioSoft 3.1.2 com as curvas de distância dos cristais, pressão ventricular esquerda e volume ventricular esquerda, durante interrupção do fluxo pela veia cava inferior..... 62
- Figura 5 - Curva de pressão volume com variação de pré-carga (Tela do programa CardioSoft 3.1.2. A - Linha vermelha: relação linear representativa da elastância máxima. B - Linha azul: curva representativa da relação pressão-volume diastólico final (EDPVR). C - Cruzes vermelhas: fim da diástole. D - Pontos cor-de-rosa: fim da sístole 64
- Figura 6 – Gráfico Pressão-Volume demonstrando o Trabalho Sistólico, a Energia Potencial. A Área total da curva pressão volume (PVA) é obtida pela soma da Energia Potencial e do Trabalho Sistólico..... 65
- Figura 7 – Cortes do ventrículo esquerdo utilizados para medida de espessura das paredes ventriculares septal e lateral. A) Grupo Insuficiência. B) Grupo Estenose. C) Grupo Controle 66
- Figura 8 – Corte Histológico representativo do grupo Insuficiência. Coloração de Tricrômico de Masson, evidenciando a fibrose em cor azul. 67

Lista de Gráficos

- Gráfico 1** – Peso inicial dos animais – Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não se observou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos. 71
- Gráfico 2** – Peso final dos animais. Valores expressos em média e 95% de intervalo de confiança. Houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos insuficiência e estenose em comparação ao grupo controle..... 72
- Gráfico 3** – Comparação entre peso inicial e peso final dos coelhos do grupo controle. Diferença estatisticamente significativa..... 73
- Gráfico 4** – Comparação entre peso inicial e peso final dos coelhos do grupo estenose. Diferença estatisticamente significativa..... 73
- Gráfico 5** – Comparação entre peso inicial e peso final dos coelhos do grupo insuficiência. Diferença estatisticamente significativa..... 74
- Gráfico 6**–Peso do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Diferença estatisticamente significativa quando comparado o grupo insuficiência com o grupo controle e o grupo estenose. 75
- Gráfico 7**–Relação entre peso do ventrículo esquerdo / peso final do animal. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle com o grupo estenose e o grupo insuficiência e entre os grupos estenose e grupo insuficiência..... 76
- Gráfico 8**–Espessura da parede lateral do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e estenose..... 77
- Gráfico 9**–Espessura da parede septal do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e estenose..... 78

Gráfico 10 –Frequência cardíaca. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.....	79
Gráfico 11 –Volume Diastólico Final do Ventrículo Esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferenças estatisticamente significantes entre o grupo insuficiência e os grupos controle e grupo estenose.	80
Gráfico 12 – Volume sistólico final do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferenças estatisticamente significantes do grupo insuficiência em relação ao grupos controle e ao grupo estenose.	81
Gráfico 13 – Pressão máxima desenvolvida no ventrículo esquerdo.Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.	82
Gráfico 14 – Pressão mínima em ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.	83
Gráfico 15 – dP/dT máxima.Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.	84
Gráfico 16 – dP/dT mínima. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.	85
Gráfico 17 – Fração de ejeção do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.	86

- Gráfico 18** – Volume sistólico ejetado do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferenças estatisticamente significantes do grupo insuficiência em relação ao grupo controle e ao grupo estenose. 87
- Gráfico 19** – Débito cardíaco. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferenças estatisticamente significantes entre o grupo insuficiência e os grupos estenose e controle. 88
- Gráfico 20** – Fração de encurtamento do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos. 89
- Gráfico 21** – Tempo de relaxamento isovolumétrico do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos. 90
- Gráfico 22** – Trabalho sistólico do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos. 91
- Gráfico 23** – Trabalho mecânico total do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferenças estatisticamente significantes do grupo insuficiência em relação ao grupo estenose e ao grupo controle. 92
- Gráfico 24** – Energia potencial do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferenças estatisticamente significantes entre o grupo insuficiência e os grupos controle e estenose. 93

- Gráfico 25** – Elastância máxima. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferenças estatisticamente significantes entre o grupo controle e os grupos estenose e insuficiência e entre o grupo estenose e o grupo insuficiência. 94
- Gráfico 26** – Trabalho sistólico pré-recrutável do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferença estatisticamente significativa quando comparado o grupo controle com o grupo estenose e com o grupo insuficiência. 95
- Gráfico 27** – Relação pressão-volume diastólica final do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos..... 96
- Gráfico 28** – Relação fibrose / tecido. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo estenose e os grupos controle e insuficiência. 97



RESUMO

RESUMO

Introdução: É importante o desenvolvimento de modelos reprodutíveis de insuficiência cardíaca, para melhor entendimento da fisiopatopatologia, desenvolvimento e validação de métodos terapêuticos nessa síndrome. Poucos experimentos comparam os modelos entre si, dentro da mesma espécie animal. **Objetivo:** Desenvolver modelo experimental de insuficiência cardíaca em coelhos com dois tipos de intervenção. **Material e método:** Foram induzidas sobrecarga volêmica por insuficiência aórtica (GI-18 animais) e sobrecarga pressórica por constrição da aorta (GE-16 animais), e comparados com grupo controle (GC-11 animais). Os animais foram observados por oito semanas e submetidos a estudo hemodinâmico e histopatológico. Foi considerado estatisticamente significativo $p < 0.05$. **Resultados:** Nenhum animal apresentou sinais clínicos de insuficiência cardíaca. Houve aumento da relação peso ventrículo esquerdo (VE)/coelho no GI e GE; aumento dos volumes diastólico e sistólico final, volume ejetado e débito cardíaco no GI; aumento da espessura da parede septal e lateral do VE no GE; não houve alterações na fração de ejeção, dP/dT máxima e mínima, tempo de relaxamento isovolumétrico, relação pressão-volume diastólico final e trabalho sistólico entre os grupos. Houve diminuição da elastância máxima e do trabalho sistólico pré-recrutável nos grupos GE e GI. Houve aumento da área pressão-volume total (PVA) no GI. Houve aumento da fibrose no GE. **Conclusão:** Padronizamos dois modelos de IC em fase compensada em coelhos. As lesões histológicas demonstram que a fibrose é mais proeminente no GE, no período estudado, e os índices de contratilidade demonstram piora, sem sinais clínicos de IC, no GI e GE.



ABSTRACT

ABSTRACT

Introduction: The development of heart failure experimental models is important to better understanding of physiopathology and validation of new therapeutic strategies. Few previous reports compared the models within the same animal species.

Objective: Development and standardization of heart failure experimental model in rabbits

with two interventions. **Material and method:** Volume overload was induced by aortic lesion (GI-18 animals) and pressure overload by aortic constriction (GE-16 animals) and compared with control (GC-11 animals). Eight weeks after the intervention we performed

hemodynamic and histopathology studies in all animals. **Results:** Animals did not develop clinical heart failure. The left ventricle/rabbit relation was increased in GI and GE; final diastolic and systolic volumes, stroke volume and cardiac output were increased in GI; septal and lateral left ventricle walls were increased in GE; ejection fraction, maximal and minimal dP/dT, isovolumic relaxation time, end diastolic pressure-volume relation and systolic work were equal between the groups. Maximal elastance and pre-recrutable systolic work were lower in GE and GI. Pressure-volume area (PVA) was increased in GI.

Conclusion: Two models of compensated heart failure were developed in rabbits. The myocardial fibrosis was more important in GE and contractility indices were worse, without clinical heart failure, in GE and GI.



INTRODUÇÃO

A Insuficiência Cardíaca (IC) é uma síndrome clínica muito prevalente no nosso meio, e está associada à piora da capacidade funcional, diminuição da qualidade de vida e aumento da morbidade e mortalidade dos pacientes portadores. A IC é considerada a via final comum da maioria das doenças cardiovasculares. Está associada, após o diagnóstico, à mortalidade de 80% em homens e 70% em mulheres após oito anos de seguimento (American Heart Association, 2006).

A prevalência da IC é proporcional à idade, com prevalência de 10% na população com idade superior a 65 anos, e cerca de 80% dos pacientes hospitalizados por IC tem mais de 65 anos de idade (Masoudi et al., 2002). No Brasil, a IC é responsável por aproximadamente um terço das internações do Sistema Único de Saúde – SUS por doenças do aparelho circulatório, sendo a principal causa de internação em pacientes com idade acima de 60 anos. As internações por IC, em 2003, custaram aproximadamente 3,37% (R\$ 198 milhões) do total de gastos com as internações pelo SUS (Brasil, 2005).

A IC tem sido descrita como uma enfermidade progressiva desencadeada a partir de um insulto inicial que acomete o músculo cardíaco, com resultante perda de massa muscular ou, alternativamente, perda da habilidade desse miocárdio de gerar força e manter função contrátil adequada (Mann, 1999; Opie, 1998). Com a instalação da disfunção cardíaca, ocorre a ativação de mecanismos adaptativos, dentre os quais se destacam o sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRA) e o sistema nervoso simpático (SNS) (Mann, 1999). Outro mecanismo adaptativo é o remodelamento ventricular, processo pelo qual fatores mecânicos, neuro-hormonais e genéticos alteram o tamanho, a forma e a função ventricular (Jessup e Brozena, 2003). Os principais pontos do remodelamento cardíaco são: a hipertrofia dos cardiomiócitos e a dilatação cardíaca com o aumento na formação da matriz intersticial. Esse processo adaptativo inicia-se como mecanismo compensador para manter a função ventricular e preservar o estresse da parede miocárdica (Francis e MacDonald, 1992). Os miócitos cardíacos são células diferenciadas sem capacidade de divisão. Essa característica impõe restrições ao crescimento regenerativo em situações de demanda aumentada ou perda celular ampla. Alternativamente, os cardiomiócitos de adultos apresentam crescimento vicariante, representado pelo aumento global de suas dimensões e estruturas. No entanto, a própria natureza desse processo limita

sua expansão, e a persistência dos estímulos termina por ser deletéria aos cardiomiócitos, levando à sua disfunção e perda progressivas (Franchini, 2002). O entendimento da fisiopatologia da insuficiência cardíaca ainda não é completo.

Dadas as razões acima, torna-se importante o desenvolvimento de modelos reprodutíveis de insuficiência cardíaca, para melhor entendimento da fisiopatologia, desenvolvimento e validação de métodos terapêuticos nessa síndrome.

A IC pode ser classificada de diversas formas: quanto ao tempo de instalação (aguda ou crônica), quanto a etiologia (diabética, hipertensiva, isquêmica, valvar, inflamatória, infecciosa e outras), quanto a estabilidade clínica do quadro (compensada ou descompensada). A IC pode comumente se originar da falência miocárdica, situação em que dois defeitos básicos do ciclo contrátil do músculo cardíaco podem estar envolvidos, de forma isolada ou simultânea: a redução da capacidade contrátil sistólica (IC sistólica) ou redução da capacidade de relaxamento diastólico (IC diastólica) (Simões et al., 2005).

O uso de modelos animais experimentais de insuficiência cardíaca tem proporcionado novas informações na fisiopatologia da IC. Isto fornece suporte aos estudos clínicos e à avaliação de intervenções terapêuticas. O modelo animal ideal deve preencher alguns critérios para mimetizar adequadamente a insuficiência cardíaca humana (Muders e Elsner, 2000).

- Ser o mais próximo possível da insuficiência cardíaca humana;
- A causa da insuficiência cardíaca deve ser semelhante às causas habituais em humanos;
- Deve permitir estudos da apresentação crônica da insuficiência cardíaca
- Produzir sintomas de maneira previsível e controlada;
- Permitir a mensuração de parâmetros cardiovasculares, bioquímicos e hemodinâmicos relevantes;
- Ser econômica e tecnicamente factível;
- Estar de acordo com os protocolos de proteção animal.

Várias espécies animais já foram utilizados para o desenvolvimento da IC. Estudos com ratos podem ser realizados com grande tamanho amostral e em pequeno intervalo de tempo (Muders e Elsner, 2000). O coração do rato tem frequência cardíaca cinco vezes maior que o coração humano, mas, ao contrário deste, tem uma relação força-frequência inversamente proporcional (Bers, 1991). Esses modelos, no entanto, não permitem estudos precisos da função ventricular devido ao pequeno porte do animal (Gilson et al., 1990). Foram descritos também modelos experimentais com animais maiores, como cães. Devido ao maior porte, permitem instrumentação cirúrgica mais fácil, além de melhor acurácia nos testes de função cardíaca. Porém, necessitam de maior tempo para o desenvolvimento da síndrome de insuficiência cardíaca, variando entre nove meses e dois anos (Vartner et al., 1985). O uso de coelhos como animal de experimentação para o desenvolvimento de IC parece ser um modelo adequado para o nosso meio, pois permite o desenvolvimento de insuficiência cardíaca em períodos curtos como quatro semanas quando são usados métodos como insuficiência aórtica e constrição de aorta simultaneamente (Gilson et al., 1990). Neste modelo é possível a realização de estudos crônicos e avaliações sequenciais de parâmetros hemodinâmicos, sistemas hormonais e funções orgânicas (Muders e Elsner, 2000). Existem similaridades entre o coração do coelho e o coração humano, como uma relação positiva entre força e frequência miocárdicas e processos de acoplamento excitação-contração (Dekker et al., 1998; Ezzaher et al., 1992).

Várias formas de indução de IC em animais de experimentação já foram descritas, tais como: isquemia miocárdica, hipertensão arterial sistêmica, sobrecarga pressórica, sobrecarga volêmica, combinação de sobrecarga pressórica e volêmica, miocardiopatia tóxica, taquicardia mantida com o estímulo de marcapasso e miocardite viral (Muders e Elsner, 2000).

O desenvolvimento de insuficiência cardíaca por isquemia miocárdica tem relevância clínica evidente e é tecnicamente fácil de ser realizado. Em estudos com ratos, está associada com mortalidade inicial de até 50% devido ao procedimento cirúrgico ou complicações próprias do infarto do miocárdio. A área do miocárdio infartada tem ainda grande variação, pois depende das diferenças anatômicas no padrão da circulação

coronariana (Pfeffer et al., 1979). Em estudos com coelhos, também foi alta a mortalidade inicial do procedimento, havendo grande variabilidade na extensão da área infartada no miocárdio, na redução da fração de ejeção do ventrículo esquerdo e na incidência das manifestações clínicas de insuficiência cardíaca, o que pode confundir a interpretação dos estudos que utilizaram este modelo (Pye et al., 1996).

Existem ratos geneticamente propensos a hipertensão arterial, em modelo bem estabelecido, que não necessitam de manipulação cirúrgica e simulam a IC induzida por hipertensão arterial. Necessitam, no entanto, de períodos de 18-24 meses para que ocorra a falência cardíaca (Bing et al., 1995). Em coelhos, a hipertensão arterial pode ser causada experimentalmente por envolvimento dos rins em papel celofane com o desenvolvimento de hipertrofia ventricular esquerda leve após um período de 12 semanas, sem sinais evidentes de IC (Chen et al., 1997).

Outro método descrito induz sobrecarga pressórica por constrição da aorta ascendente (Martins et al., 2001) ou abdominal, em coelhos (Mohammadi et al., 1997). O procedimento é relativamente simples e de baixa mortalidade. No entanto, em trabalhos com ratos, apenas um subgrupo de animais desenvolveu sinais de IC, tornando esse método pouco reprodutível como modelo de insuficiência cardíaca, segundo Francis (2005).

A insuficiência cardíaca pode ser induzida por sobrecarga volêmica com a criação de fístula artério-venosa ou lesão da válvula aórtica tornando-a insuficiente. Isto leva a diminuição da pressão arterial média, aumento das pressões de enchimento dos ventrículos esquerdo e direito, associado a hipertrofia e dilatação do ventrículo esquerdo (Liu et al., 1991). Em modelos com lesão da válvula aórtica e conseqüente insuficiência da mesma, evidenciado por ecocardiografia, cerca de 50% dos coelhos evoluem com compensação do quadro hemodinâmico, sem evidências clínicas de insuficiência cardíaca crônica após 2,9 anos (Liu et al., 1998). Esse modelo parece ser adequado para estudos de mecanismos compensatórios associados com falência cardíaca e disfunção diastólica, mas sem falência miocárdica sistólica (Francis, 2005).

A miocardiopatia tóxica é o método mais bem estabelecido de IC experimental e várias drogas de uso clínico já foram utilizadas com esse intuito, tais como epirubicina

(Kelso et al., 1997), doxorubicina (Arnold et al., 1985; Noshiro et al., 1993) e epinefrina (Muders et al., 1999). Esses modelos parecem ser adequados para avaliar a progressão da IC crônica por medidas seriadas de função ventricular em preparações de pequenos animais (Francis, 2005), além de permitir a identificação de processos patológicos subcelulares (Smith e Nuttal, 1985). No entanto, em modelo com coelho, houve grande variabilidade no grau de disfunção ventricular atingido, assim como nos níveis de lesão histológica, sugerindo que esse método pode não ser plenamente reprodutível, confundindo a interpretação dos resultados obtidos (Pye et al., 1996).

O uso de marcapasso cardíaco ventricular em estimulação com frequência elevada induz a insuficiência cardíaca crônica, com alterações dos parâmetros hemodinâmicos e aparecimentos de sinais clínicos. Necessita, no entanto, de dispositivos desenvolvidos especialmente para esse fim e não há disponibilidade comercial destes dispositivos (Masaki et al., 1993).

Outro modelo, descrito por Gilson et al. (1990), provoca sobrecarga volêmica, por lesão da válvula aórtica e conseqüente insuficiência valvular aórtica, associada com sobrecarga pressórica, por meio de constrição da aorta abdominal, levando a miocardiopatia dilatada com disfunção diastólica e sistólica do ventrículo esquerdo, menor resposta às catecolaminas e menor densidade de receptores β -adrenérgicos no miocárdio. A avaliação da função cardíaca foi realizada entre 23 e 35 dias após o procedimento cirúrgico inicial para lesão da válvula aórtica.

Muitos destes modelos são utilizados para avaliação de aspectos particulares da síndrome de insuficiência cardíaca crônica. Não existe um modelo ideal que mimetize todos os aspectos da insuficiência cardíaca em humanos, existindo ainda controvérsias sobre qual modelo seria o mais adequado (Smith e Nuttal, 1985). Poucos trabalhos foram realizados comparando os diferentes modelos, já que estes evoluem com diferentes mecanismos fisiopatológicos. Dessa maneira, tornam-se necessários experimentos que comparem os modelos entre si, dentro da mesma espécie animal, evidenciando diferenças, tempo de evolução, mudanças hemodinâmicas e histopatológicas, para que trabalhos futuros possam selecionar o melhor modelo específico.

Dentre as alterações histopatológicas citadas anteriormente, destacamos a ocorrência da necrose celular e fibrose. A necrose e a degeneração dos cardiomiócitos têm sido relatadas tanto em pacientes com insuficiência aórtica quanto com estenose aórtica (Maron et al., 1975). Entretanto, em pacientes com insuficiência cardíaca compensada ou não as alterações histopatológicas miocárdicas encontradas podem ser parcialmente atribuídas à doença de base, como doença cardíaca reumática e doenças do tecido conjuntivo, ou a doenças concomitantes, como doença arterial coronariana e hipertensão arterial. Corroborando com esta observação, os estudos que relacionam histologia miocárdica e resultados cirúrgicos tem observações contraditórias (Oldershaw et al., 1990; Donaldson et al., 1982). Assim, foram desenvolvidos modelos animais experimentais que simulassem a doença valvular cardíaca pura e conseqüente insuficiência cardíaca congestiva, permitindo a avaliação da relação, nestes modelos, entre as alterações histopatológicas e alterações do desempenho cardíaco (Liu et al., 1998). Esses estudos, entretanto, não são consistentes na literatura. É relatada a ocorrência de anormalidades na composição miocárdica, porém, sem correlação clara com a clínica de insuficiência cardíaca. Liu et al.(1998), em modelo de insuficiência aórtica em coelhos, demonstrou que achados de fibrose miocárdica e necrose dos cardiomiócitos, em animais com as mesmas medidas de performance ventricular esquerda, tinham forte correlação com características clínicas de IC, sugerindo que a ocorrência de degeneração dos cardiomiócitos e a fibrose do ventrículo esquerdo podem preceder o aparecimento da insuficiência cardíaca clínica. Atualmente, essas observações ganham maior importância com o aparecimento de métodos diagnósticos de imagem que podem identificar a fibrose miocárdica, como a ressonância magnética (Sparrow et al., 2006).

Em modelos de estenose aórtica, a sobrecarga pressórica ventricular esquerda leva a hipertrofia miocárdica inicialmente, como mecanismo compensatório, que progride para falência miocárdica e descompensação do quadro clínico (Levy et al., 1990; Yacoub, 2001). As alterações celulares e moleculares que ocorrem no miocárdio durante a transição do estado compensado para o descompensado da hipertrofia miocárdica não são ainda completamente entendidas. O tempo necessário para o desenvolvimento da hipertrofia ventricular concêntrica e o momento do aparecimento da falência cardíaca é difícil de

predizer nos estudos clínicos e experimentais. Walther et al. (2000), em estudo experimental, aplicou bandagem aórtica supracoronariana em ovelhas e realizou acompanhamento ecocardiográfico, observando um aumento significativo da massa ventricular esquerda após 8,3 meses, com hipertrofia ventricular esquerda compensada sem um aumento significativo dos episódios de insuficiência cardíaca.

Deterioração da função ventricular e diminuição da complacência com acúmulo de colágeno tem sido relatado em roedores e primatas não humanos que apresentavam hipertensão arterial genética ou induzida. Capasso et al.(1990), em modelo de hipertensão arterial em ratos induzida por clipagem de artéria renal unilateral, demonstrou um aumento da pressão arterial com 2 semanas e com 5 meses após o procedimento, seguida de normalização da pressão arterial 8 meses após o procedimento. Neste último momento, quando os animais foram sacrificados, encontrou dilatação ventricular esquerda e diminuição da espessura da parede, com diminuição da fração de ejeção e manutenção do volume sistólico, acompanhado de aumento da fibrose miocárdica, principalmente na região subendocárdica, quando comparada com animais controle. O autor conclui que o fator tempo é determinante na transição de uma performance ventricular bem adaptada para descompensação e falência ventricular.

Os fatores que determinam a transição da hipertrofia ventricular esquerda compensada para descompensada e a conseqüente insuficiência cardíaca ainda são controversos na literatura. A perda de cardiomiócitos é determinante nesta transição, porém os fatores e os mecanismos que levam à perda celular ainda são motivos de discussão. A perda de cardiomiócitos tem como mecanismo mais discutido na literatura a necrose celular, que ocorre principalmente pela isquemia celular, na hipertrofia miocárdica (Diwan e Dorn, 2007). Outro mecanismo de morte celular com recente destaque é a apoptose, ou morte celular programada, que apesar de apresentar baixa incidência na insuficiência cardíaca descompensada, parece ser determinante na sua evolução (Olivetti et al., 1997).

Em estudo com camundongos, onde era realizado bloqueio da proteína Gp130, que é um mensageiro na cadeia apoptótica com papel protetor na apoptose, não houve diferença na função cardíaca com ou sem o bloqueio da Gp130. Entretanto, quando esses

camundongos eram submetidos à sobrecarga pressórica observou-se aumento da taxa de apoptose e concomitante falência miocárdica nos camundongos com bloqueio da Gp130, quando comparados com os controles (Hirota et al., 1999). Em outro modelo com camundongos, onde existe uma expressão aumentada da proteína Gαq, que é segundo mensageiro dos receptores da epinefrina, angiotensina II e endotelina, com conseqüente hipertrofia miocárdica e descompensação cardíaca no período periparto das camundongas, o bloqueio das vias efetoras da apoptose não só melhorou a performance cardíaca nestas camundongas, como diminui a mortalidade do período em estudo. Hayakawa et al. (2003) conclui que a apoptose tem papel fundamental na transição da miocardiopatia hipertrófica compensada para descompensada.

Consideramos ser de grande importância o desenvolvimento de pesquisas relacionadas ao desenvolvimento de modelos animais experimentais de insuficiência cardíaca a fim do melhor entendimento de sua fisiopatologia, relacionando as alterações mecânicas e histopatológicas, para que seja possível o posterior desenvolvimento de terapias eficazes, sejam cirúrgicas ou farmacológicas.



OBJETIVO

Geral:

1. Desenvolver e padronizar modelo experimental de insuficiência cardíaca em coelhos com dois tipos de intervenção.

Específicos:

1. Descrever alterações histológicas nos dois modelos utilizados
2. Descrever alterações morfológicas nos dois modelos utilizados
3. Descrever alterações nos índices de contratilidade miocárdica nos dois modelos utilizados



MATERIAL E MÉTODO

Todos os experimentos foram realizados no Núcleo de Medicina e Cirurgia Experimental (NMCE) da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), e o protocolo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) – IB – UNICAMP, sob o número 1146-1. Os experimentos foram realizados entre junho de 2006 e novembro de 2007. Utilizamos coelhos da raça *New Zealand*, com peso entre 3,0 e 5,0 quilogramas.

Descrição da técnica anestésica e procedimento cirúrgico inicial:

Todos os animais foram pesados, com o peso registrado em quilogramas. Todos os animais foram inicialmente submetidos à anestesia intramuscular com uso de cloridrato de xilazina a 2%, na dose de 5mg/Kg e cloridrato de quetamina a 10% na dose de 50mg/Kg, ambos por via intramuscular. Foi feita antibioticoterapia profilática com ceftriaxona intravenoso na dose de 10mg/Kg. Os animais foram colocados em decúbito dorsal horizontal com hiperextensão cervical. Houve complementação anestésica com cloridrato de xilocaína a 1% sem adição de vasoconstritor no local de incisão cirúrgica (Flecknell, 1996). Foi realizada cervicotomia transversa, com dissecção da artéria carótida direita em todos os animais.

Os animais foram divididos em três grupos conforme a lesão programada. O grupo onde foi realizada a lesão da valva aórtica designou-se Grupo Insuficiência. O grupo submetido à constrição da aorta designou-se Grupo Estenose. O grupo submetido apenas à dissecção da carótida, sem outros procedimentos adicionais, designou-se Grupo Controle. Assim, foram designados, três grupos, com os seguintes números de animais:

- Grupo Insuficiência (GI): 18 animais
- Grupo Estenose (GE): 16 animais
- Grupo Controle (GC): 11 animais

No GI foi realizada cateterização da artéria carótida direita. Esse catéter era preenchido com solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% e conectado a transdutor de pressão e monitor de pressão, sendo possível a mensuração da pressão no catéter durante toda a manipulação do mesmo. Foi registrado a pressão arterial sistêmica inicial e, baseada

nesta, a pressão arterial de pulso, que é a diferença entre as pressões arteriais sistólica e diastólica. O catéter foi progredido até o ventrículo esquerdo, identificado pela queda da pressão diastólica característica do ventrículo esquerdo. Foi realizada lesão perfurativa da válvula aórtica, por meio do cateter. Era considerado como lesão significativa aumento de pelo menos 50% na pressão de pulso. Após realizada a lesão, o catéter foi retirada e feito ligadura da artéria carótida direita com fio de algodão 3.0.

No grupo Estenose foi realizada ampla dissecação da artéria carótida direita, tronco braquiocefálico e aorta ascendente. Identificou-se a aorta ascendente e então foi posicionado um clipe metálico (Clipe de titânio Horizon Hemoclip – Weck Closure Systems; Aplicador de Clipes Horizon – Weck Closure Systems) na mesma de maneira a provocar constrição (Figura 2). O grau de constrição da aorta foi determinado em um animal piloto onde foi medida a pressão sistólica ventricular esquerda e pressão sistólica arterial na artéria carótida simultaneamente, sendo realizada constrição progressiva da aorta com clipe metálico até se obter um gradiente pré e pós clipe maior que 50mmHg. Marcou-se no aplicador o local para que houvesse sempre o mesmo fechamento do clipe.

No grupo Controle foi realizada dissecação de artéria carótida direita, não sendo feito qualquer procedimento adicional.

Após realização dos procedimentos descritos acima, foi feito revisão de hemostasia, aproximação de planos subcutâneos com fio de algodão 3.0 e fechamento de

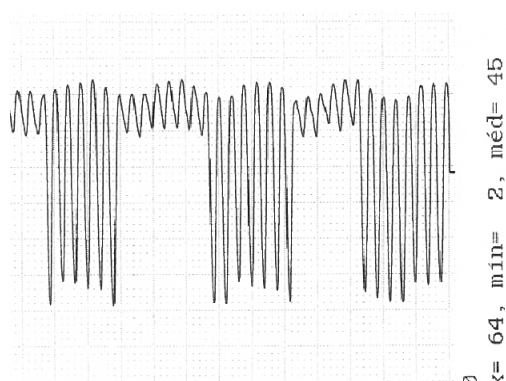


Figura 1 – Gráfico da pressão mensurada pelo catéter inserido na artéria carótida direita, progredindo até ventrículo esquerdo. Observar a diferença de pressão entre aorta e ventrículo esquerdo.

pele com pontos separados com fio de nylon 3.0. Todos animais foram mantidos em cativeiro no biotério do NMCE sob condições e alimentação semelhantes por oito semanas. Após este período foram submetidos a estudo hemodinâmico.

Descrição do estudo hemodinâmico:

Para realização do estudo hemodinâmico, foram utilizados os seguintes equipamentos:

- Monitor com sistema PCA-4 com quatro canais de pressão.
- Jogo de cristais sonomicrométricos, utilizados num total de dois.
- Sincronizador de cristais sonomicrométricos TRX6 da Sonometrics.
- Software CardioSoft 3.1.2 da Sonometrics – London, Ontário – Canadá.

A aquisição das curvas de pressão foi feita por meio de catéteres preenchidos com solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% e transdutores de pressão.

Os animais foram pesados, com o peso registrado em quilogramas. Os animais foram inicialmente submetidos à anestesia geral por administração de cloridrato de xilazina a 2%, na dose de 5mg/Kg e cloridrato de quetamina a 10% na dose de 50mg/Kg, ambos por

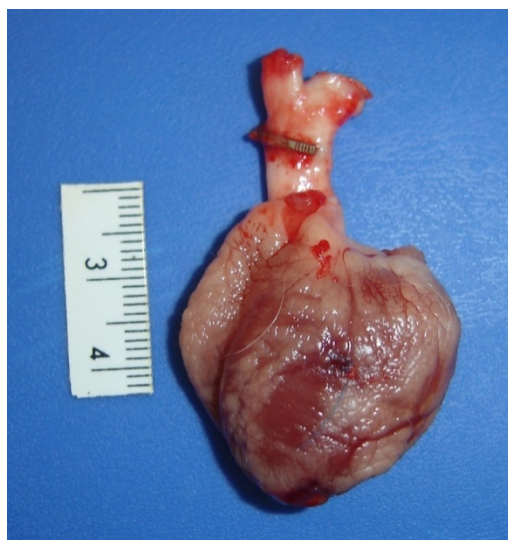


Figura 2 – Demonstração de clipe metálico em aorta ascendente. Coração e aorta, tendo sido ressecado átrios e artéria pulmonar.

via intramuscular. Foi realizada tricotomia cervical e torácica anterior. Os animais foram colocados em decúbito dorsal horizontal com hiperextensão cervical. Houve complementação anestésica com cloridrato de xilocaína a 1% sem adição de vasoconstritor em local de incisão cirúrgica. Foi realizada cervicotomia transversa, e dissecadas a traquéia e a artéria carótida esquerda. Procedeu-se à traqueostomia, com colocação de cânula orotraqueal número 3,0 em incisão traqueal e foi iniciada ventilação mecânica com oxigênio a 100% por respirador (K. Takaoka modelo 600). A seguir, foi cateterizada a artéria carótida esquerda com catéter preenchido com solução de soro fisiológico de cloreto de sódio a 0,9% e conectado a transdutor de pressão e este a canal de pressão, permitindo a monitorização da pressão arterial sistêmica durante o resto do experimento.

A seguir, foi administrado citrato de fentanila (concentração 0,0785 mg/ml) na dose de 8 µg/Kg via endovenosa, para complementação analgésica. Foi realizada esternotomia mediana e pericardiotomia. Foram fixados cristais sonomicrométricos nas paredes anterior e posterior do ventrículo esquerdo por meio de ponto com fio de polipropileno 6.0 e incisão local na parede ventricular esquerda. Esses cristais foram conectados ao sincronizador de cristais sonomicrométricos. Foi passado fio de algodão 0 ao redor da veia cava inferior intrapericárdica, que foi utilizado para interromper momentaneamente o fluxo da veia cava inferior e provocar alterações da pré-carga cardíaca. Foi colocado catéter (Catéter intravascular periférico Jelco*Plus Poliuretano 22G) pelo ápice do ventrículo esquerdo, que foi conectado a cânula preenchida com solução fisiológica de cloreto de sódio a 0,9% e ao transdutor de pressão. Esse catéter foi utilizado para mensuração de pressão intraventricular esquerda (Figura 3).

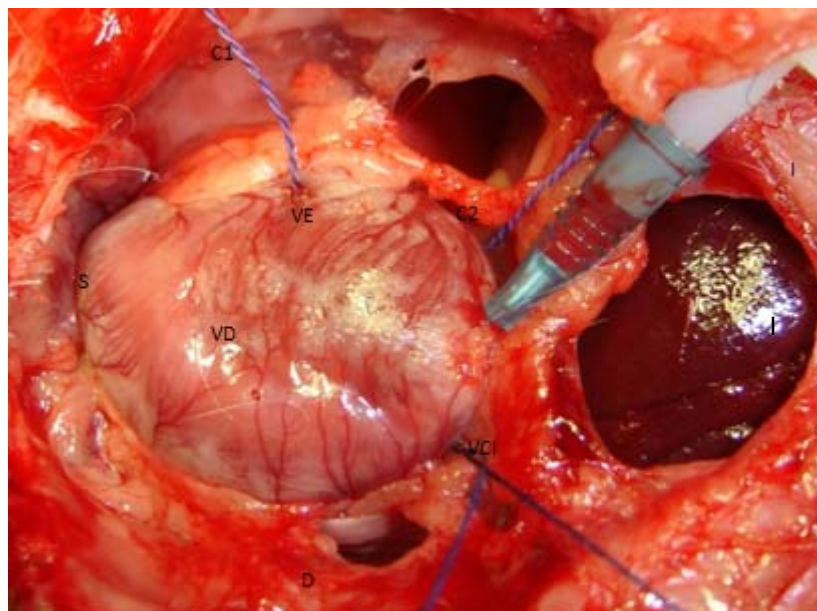


Figura 3 - Foto do estudo hemodinâmico. S–Cranial. I–Caudal. D–Lado direito do coelho. VE–Ventriculo esquerdo. VD–Ventriculo direito. C1 e C2–Cristais sonomicrométricos em paredes anterior e posterior respectivamente. P–Catéter para mensuração de pressão intraventricular esquerda. VCI–Fio de algodão em veia cava inferior.

Interrompia-se a ventilação momentaneamente e as medidas hemodinâmicas foram obtidas sem manipulação do coração. O animal era novamente ventilado por três minutos e novas medidas hemodinâmicas eram registradas com alterações da pré-carga, por interrupção momentânea do fluxo sanguíneo pela cava inferior e mensuração das curvas de volume e pressão e os índices derivados destas (Figura 4). Essas medidas foram realizadas uma vez sem manipulação do coração e duas vezes com alteração da pré-carga. Os registros com alteração de pré carga foram utilizados para cálculo dos índices de contratilidade.

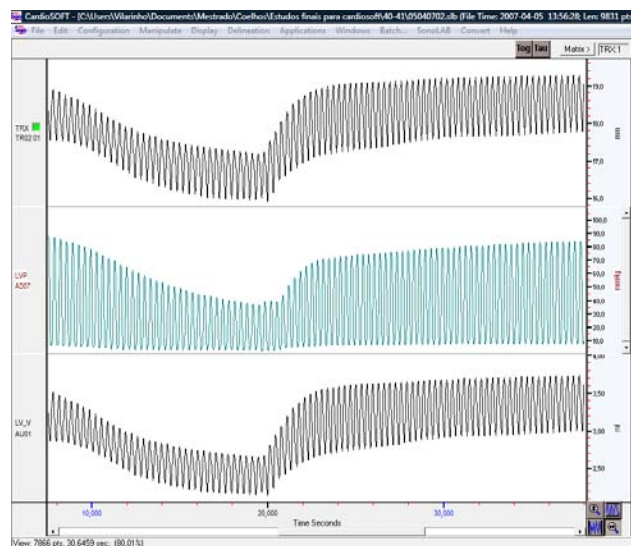


Figura 4 – Tela do programa CardioSoft 3.1.2 com as curvas de distância dos cristais, pressão ventricular esquerda e volume ventricular esquerda, durante interrupção do fluxo pela veia cava inferior.

Com essa metodologia foram obtidas curvas de pressão-volume do ventrículo esquerdo e cálculos das seguintes variáveis:

- Diâmetros do ventrículo esquerdo, obtidos pela distância entre os cristais sonomicrométricos.
 - Diâmetro sistólico final (DSF)
 - Diâmetro diastólico final(DDF)
- Volumes do ventrículo esquerdo, considerando o ventrículo esquerdo esférico, e obtido pela distância entre os cristais sonomicrométricos
 - Volume sistólico final (VSF)
 - Volume diastólico final (VDF)
- Curva de pressão do ventrículo esquerdo
 - Pressão máxima do ventrículo esquerdo
 - Pressão mínima do ventrículo esquerdo
- Primeira derivada temporal da pressão ventricular (dP/dT)

- dP/dT máxima – sistólica máxima
- dP/dT mínima – diastólica mínima
- Frequência cardíaca (FC) – em batimentos por minuto, obtida pela curva de distância dos cristais sonomicrométricos
- Volume ejetado do ventrículo esquerdo (VS) – diferença entre o volume diastólico e sistólico do ventrículo esquerdo, em cada ciclo cardíaco ($VS = VDF - VSF$)
- Fração de Ejeção do ventrículo esquerdo (FE) – razão entre o volume ejetado e o volume diastólico final em cada ciclo cardíaco ($FE = (VDF - VSF) / VDF$)
- Débito cardíaco (DC) – calculado pelo produto da frequência cardíaca instantânea e o volume ejetado, em cada ciclo cardíaco ($DC = VS \times FC$)
- Fração de encurtamento do ventrículo esquerdo (SS) – obtida pela curva de distância dos cristais sonomicrométricos, por cálculo da divisão da diferença dos diâmetros mínimo e máximo pelo diâmetro máximo do ventrículo esquerdo ($SS = (DDF - DSF) / DDF$)
- Tempo de relaxamento isovolumétrico (τ) - constante do tempo de relaxamento isovolumétrico. Calculado com a fórmula $LVP(t) = LVP0^{(-t/\tau)} + P_{asym}$ onde: $LVP(t)$ é a pressão do ventrículo esquerdo no tempo t , $LVP0$ é a pressão ventricular no final da sístole e P_{asym} é a pressão escolhida pelo usuário, que foi fixada em 5 mmHg, neste trabalho
- Curvas de pressão-volume do ventrículo esquerdo – obtidos pelas curvas de pressão ventricular esquerda e de volume ventricular esquerdo
- Trabalho sistólico – área dentro da curva de pressão-volume do ventrículo esquerdo, para cada ciclo cardíaco
- Elastância máxima (E_{max}) – relação linear entre o volume sistólico final e pressão sistólica no final da sístole, obtidos pelas curvas de pressão-volume do ventrículo esquerdo medidas com alteração da pré-carga, e expressa pela angulação dessa regressão linear.
- Relação entre volume diastólico final e pressão diastólica final (EDPVR) –

relação exponencial entre a pressão e o volume ventricular esquerdo no final da diástole. Permitir mensurar a “rigidez” do ventrículo (Figura 5).

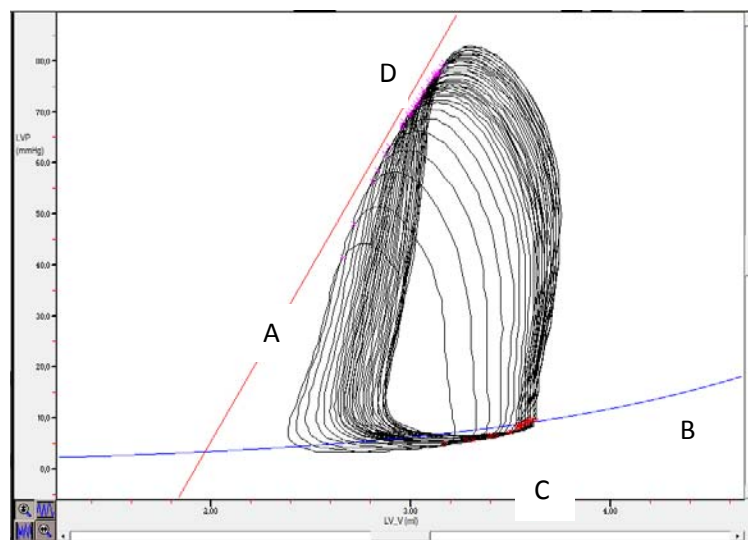


Figura 5 - Curva de pressão volume com variação de pré-carga (Tela do programa CardioSoft 3.1.2. A - Linha vermelha: relação linear representativa da elastância máxima. B - Linha azul: curva representativa da relação pressão-volume diastólico final (EDPVR). C - Cruzes vermelhas: fim da diástole. D - Pontos cor-de-rosa: fim da sístole

- Trabalho Sistólico Pré-recrutável (PRSW) – relação linear entre trabalho sistólico e diâmetro diastólico final, obtidos pelas curvas de pressão-volume do ventrículo esquerdo medidas com alteração da pré-carga, expressos pela angulação dessa regressão linear.
- Área total da curva volume-pressão (PVA) – soma do trabalho sistólico e da energia elástica potencial ao final da sístole, obtidas pela soma da área abaixo da linha de elastância máxima e da área dentro da curva de pressão-volume do ventrículo esquerdo (Figura 6)
- Energia Potencial (PE) – energia potencial elástica armazenada no ventrículo ao final da sístole. Obtida pela área abaixo da linha da elastância máxima. (Figura 6)

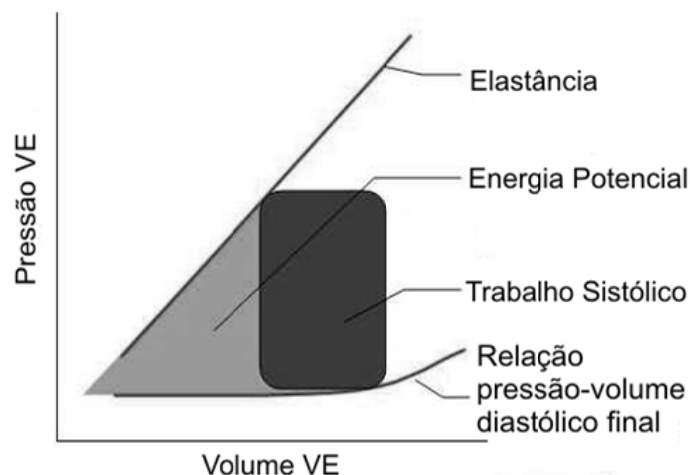


Figura 6 – Gráfico Pressão-Volume demonstrando o Trabalho Sistólico, a Energia Potencial.

Foi considerado como final da diástole o momento de maior diâmetro do ventrículo esquerdo e como final da sístole o ponto definido pela elastância máxima do ventrículo esquerdo, sendo realizados ajustes, quando necessário, pela visualização das curvas de pressão-volume do ventrículo esquerdo.

Após a realização destas medidas, os animais foram sacrificados com aplicação endovenosa de tiopental sódico a 2,5%, na dose de 150mg/Kg. Foi realizada a dissecação do coração e vasos da base, com retirada em bloco. Foram observadas alterações macroscópicas e confirmação das lesões provocadas no primeiro procedimento cirúrgico. Assim, no GI foi realizada dissecação da aorta e observada ausência ou presença de lesão na válvula; no GE foi realizada dissecação da aorta ascendente e observado a presença de clipe na aorta ascendente assim avaliação visual do grau de constrição em relação ao diâmetro proximal da aorta. No GC não houve necessidades de observações adicionais. Após estas observações, foi realizada dissecação do coração com preservação apenas do ventrículo esquerdo, sendo retirados átrios e parede livre do ventrículo direito. O ventrículo esquerdo foi pesado e registrado em gramas.

Os corações foram formolizados por um período de 48 horas e submetidos a alcoolização com álcool a 70%. Após a alcoolização, o ventrículo esquerdo foi seccionado transversalmente em três partes, dividindo-o em porção apical, média e basal. Foram feitas

fotografias dos cortes do ventrículo esquerdo e medidas da espessura da parede septal e da parede lateral na porção média do ventrículo esquerdo, medidos em milímetros (Figura 7). Esses cortes foram submetidos à fixação em parafina. Foram realizados cortes histológicos de 5µm das peças de parafina da porção média do ventrículo esquerdo. Esses cortes histológicos foram submetidos a coloração de Tricrômio de Masson.



Figura 7 – Cortes do ventrículo esquerdo utilizados para medida de espessura das paredes ventriculares septal e lateral. A) Grupo Insuficiência. B) Grupo Estenose. C) Grupo Controle

A quantificação da fibrose foi realizado por análise de fotografias das lâminas com coloração de Tricrômio de Masson, com aumento de dez vezes. Foram feitas cinco fotografias dos segmentos que apresentavam maior quantidade de fibrose do corte analisado, que foram selecionados visualmente pelo observador. Essas fotografias foram analisadas pelo Software BiocolorScanner 2[®] versão 2.2.6 para quantificação de fibrose. Essa quantificação é realizada pela contagem de “pixels” de cor azul na fotografia, e dividida pela quantidades de “pixels” da área ocupada por tecido histológico, determinando a fração de fibrose por tecido histológico (Figuras 8, 9 e 10). Cada segmento foi analisado de maneira independente por dois examinadores, e foi considerada a média dos resultados.

Os resultados estão descritos pela média aritmética \pm Desvio padrão e Intervalo de Confiança de 95% (IC 95%).

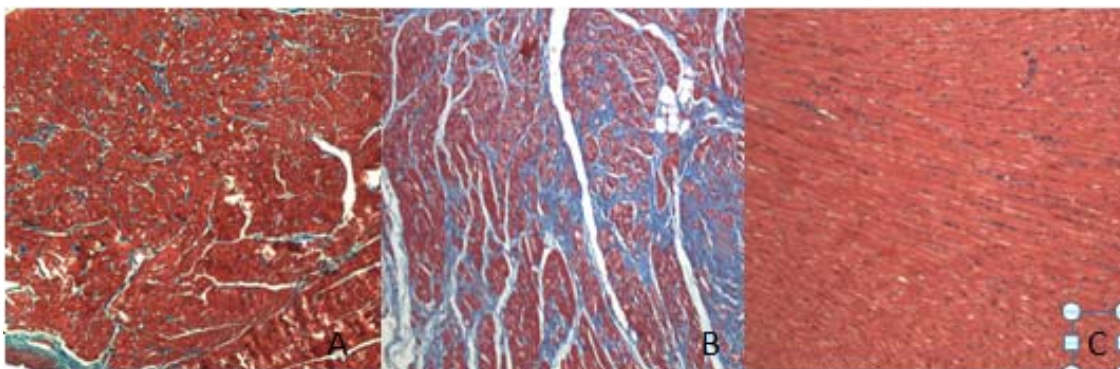


Figura 8 – Corte histológico representativo dos grupos Insuficiência (A), Estenose (B) e Controle (C). Aumento de 40x. Coloração de Tricrômio de Masson.

As análises estatísticas foram realizadas com o uso do Software Medcalc® Versão 9.3.8.0. Foi realizado inicialmente teste de D'Agostino-Pearson para verificação de distribuição normal ou não em todas os grupo de dados obtidos. Foi utilizado teste de Anova e Teste de Tukey para amostras com distribuição normal e teste de Kruskal-Wallis e Wilcoxon para amostras sem distribuição normal, para comparação dos dados entre os grupos GI, GE e GS. Foi utilizado teste t de Student para comparação de dados pareados. Foi considerado estatisticamente significativo $p < 0,05$.



RESULTADOS

Peso Inicial dos animais: O grupo controle apresentou peso inicial com média de $3,09 \pm 0,71$ Kg (IC 95%: 2,61 a 3,57 Kg). O grupo estenose apresentou peso inicial com média de $3,12 \pm 0,32$ Kg (IC 95%: 2,96 a 3,29 Kg). O grupo insuficiência apresentou peso inicial com média de $3,18 \pm 0,32$ Kg (IC 95%: 3,0 a 3,2 Kg). Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos ($p=0,40$). (Gráfico 1)

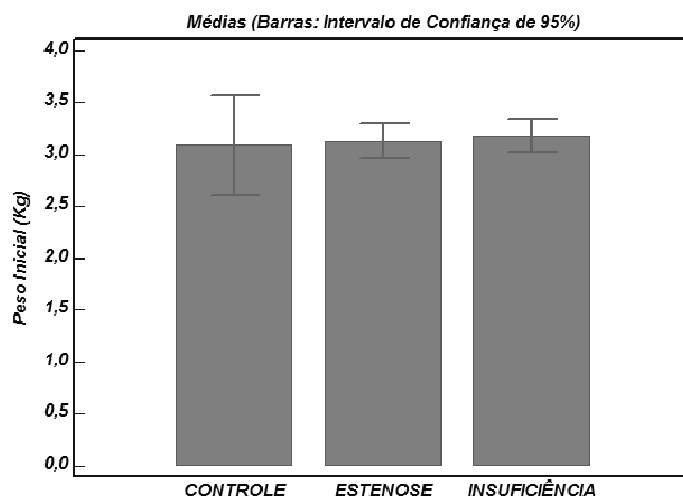


Gráfico 1 – Peso inicial dos animais – Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não se observou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos.

Peso Final dos animais: O grupo controle apresentou peso final com média de $4,42 \pm 0,56$ Kg (IC 95%: 4,01 a 4,8 Kg). O grupo estenose apresentou peso final com média de $4,05 \pm 0,27$ Kg (IC 95%: 3,91 a 4,19 Kg). O grupo insuficiência apresentou peso final com média de $3,98 \pm 0,37$ Kg (IC 95%: 3,08 a 4,17 Kg). Houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos estenose e insuficiência quando comparados com o grupo controle ($p=0,02$). (Gráfico 2).

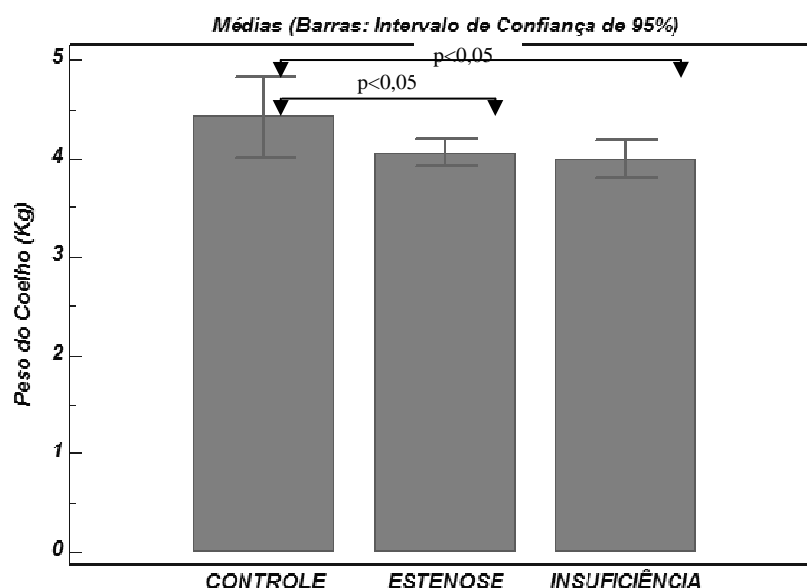


Gráfico 2 – Peso final dos animais. Valores expressos em média e 95% de intervalo de confiança. Houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos insuficiência e estenose em comparação ao grupo controle.

Peso inicial e peso final: Houve diferença estatisticamente significativa do peso final em todos os grupos, quando comparados com o peso inicial. No grupo controle o $p=0,0009$ (gráfico 3), no grupo estenose o $p<0,0001$ (Gráfico 4) e no grupo insuficiência o $p<0,0001$ (Gráfico 5).

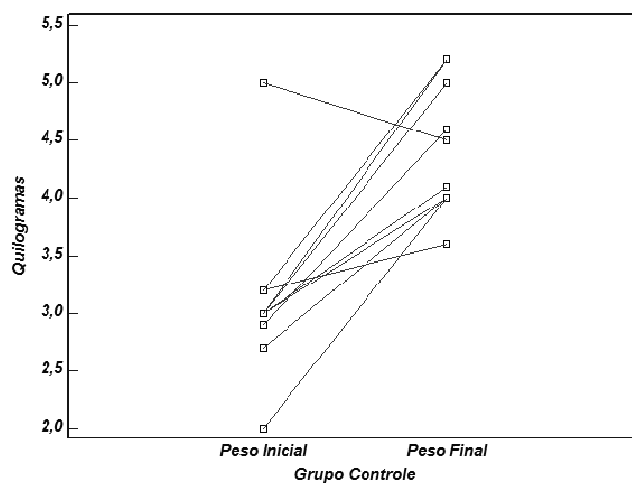


Gráfico 3 – Comparação entre peso inicial e peso final dos coelhos do grupo controle. Diferença estatisticamente significativa.

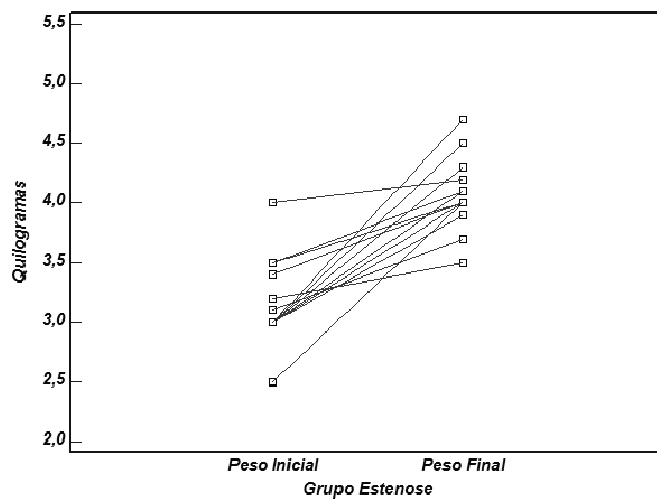


Gráfico 4 – Comparação entre peso inicial e peso final dos coelhos do grupo estenose. Diferença estatisticamente significativa.

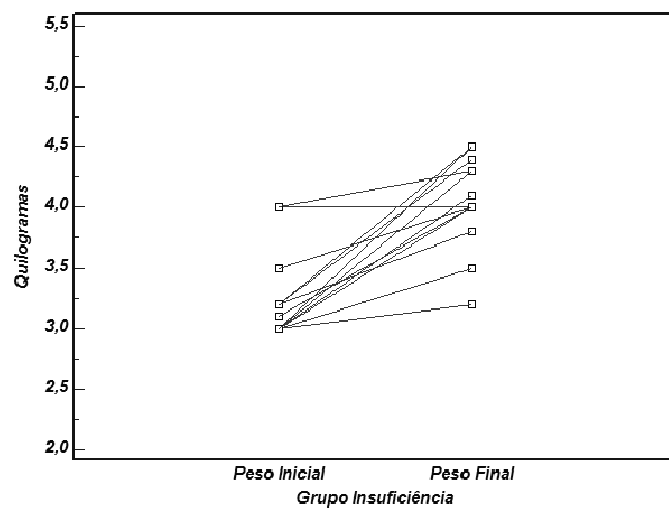


Gráfico 5 – Comparação entre peso inicial e peso final dos coelhos do grupo insuficiência. Diferença estatisticamente significante.

Peso do ventrículo esquerdo: O grupo controle apresentou peso do ventrículo esquerdo com média de $4,55 \pm 0,67$ g (IC 95%: 4,07 a 5,02 g). O grupo estenose apresentou peso do ventrículo esquerdo com média de $5,28 \pm 1,06$ g (IC 95%: 4,73 a 5,82 g). O grupo insuficiência apresentou peso do ventrículo esquerdo com média de $6,17 \pm 1,30$ g (IC 95%: 5,52 a 6,81 g). Houve diferenças estatisticamente significantes do grupo insuficiência em relação ao grupo controle e ao grupo estenose ($p=0,0029$) (Gráfico 6).

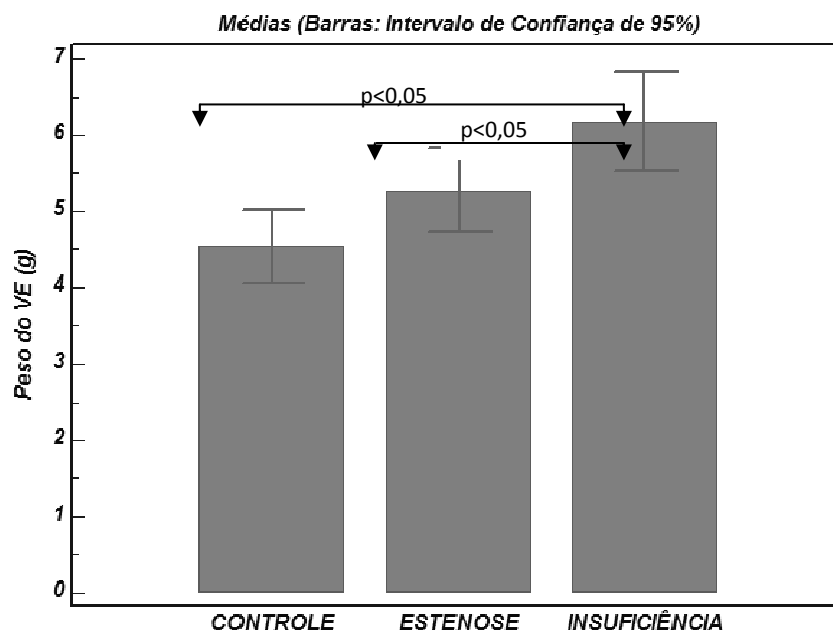


Gráfico 6—Peso do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Diferença estatisticamente significativa quando comparado o grupo insuficiência com o grupo controle e o grupo estenose.

Relação entre peso do ventrículo esquerdo / peso final do animal (Peso VE/coelho): O grupo controle apresentou peso VE/coelho com média de $0,073 \pm 0,047$ (IC 95%: 0,041 a 0,104). O grupo estenose apresentou peso VE/coelho com média de $0,13 \pm 0,023$ (IC 95%: 0,117 a 0,142). O grupo insuficiência apresentou peso VE/coelho com média de $0,155 \pm 0,031$ (IC 95%: 0,139 a 0,171). Houve diferenças estatisticamente significantes entre todos os grupos ($p < 0,0001$) (Gráfico 7).

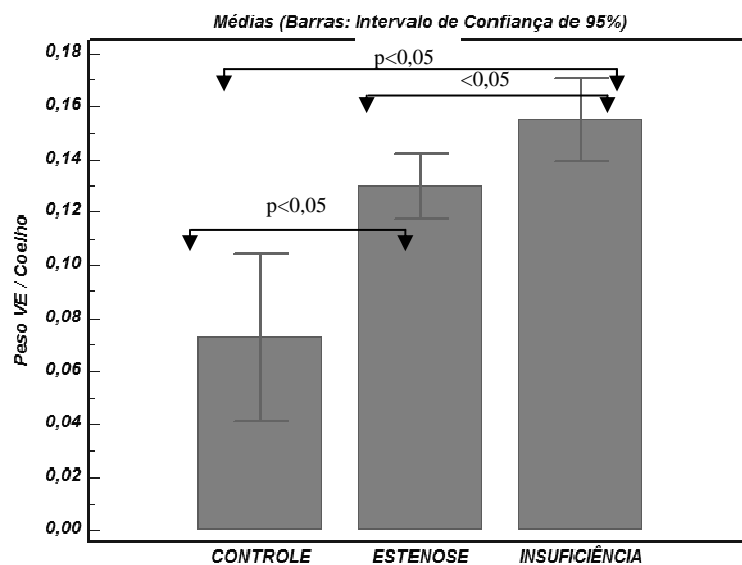


Gráfico 7–Relação entre peso do ventrículo esquerdo / peso final do animal. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle com o grupo estenose e o grupo insuficiência e entre os grupos estenose e grupo insuficiência.

Espessura da parede lateral do ventrículo esquerdo: O grupo controle apresentou espessura da parede lateral com média de $4,83 \pm 1,31$ mm (IC 95%: 3,61 a 6,05 mm). O grupo estenose apresentou espessura da parede lateral com média de $6,00 \pm 0,80$ mm (IC 95%: 5,59 a 6,41 mm). O grupo insuficiência apresentou espessura da parede lateral com média de $5,43 \pm 0,73$ mm (IC 95%: 5,01 a 5,86 mm). Houve diferença estatisticamente significativa do grupo estenose em relação ao grupo controle ($p=0,017$) (Gráfico 8).

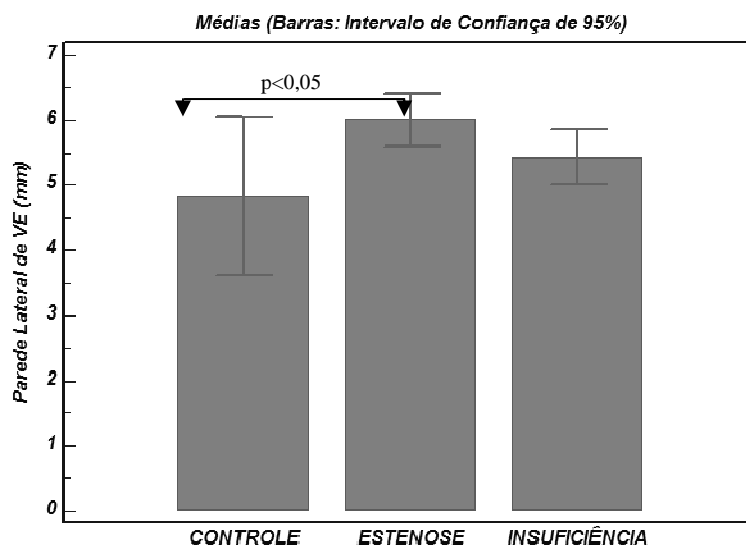


Gráfico 8—Espessura da parede lateral do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e estenose.

Espessura da parede septal do ventrículo esquerdo: O grupo controle apresentou espessura da parede septal com média de $3,98 \pm 1,00$ mm (IC 95%: 3,05 a 4,90 mm). O grupo estenose apresentou espessura do ventrículo esquerdo com média de $5,27 \pm 0,90$ mm (IC 95%: 4,81 a 5,77 mm). O grupo insuficiência apresentou espessura do ventrículo esquerdo com média de $4,70 \pm 0,76$ mm (IC 95%: 4,26 a 5,14 mm). Houve diferença estatisticamente significativa do grupo estenose em relação ao grupo controle ($p=0,007$) (Gráfico 9).

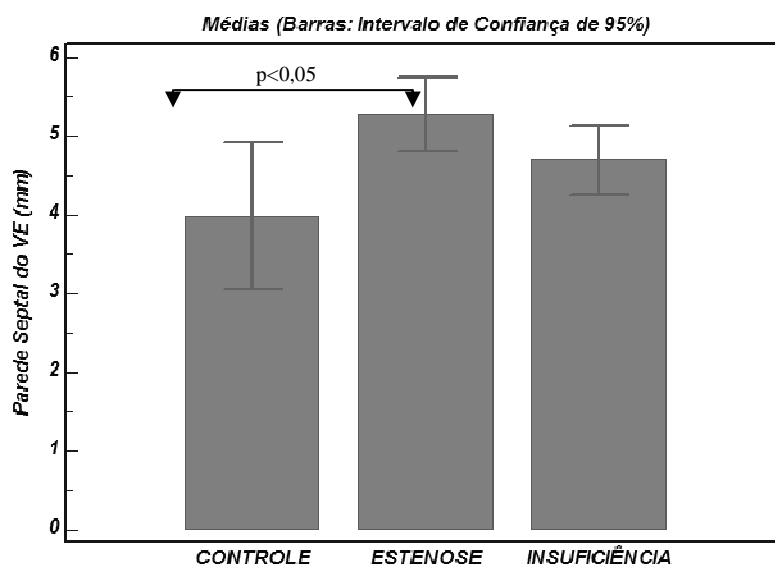


Gráfico 9—Espessura da parede septal do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e estenose.

Frequência cardíaca: O grupo controle apresentou frequência cardíaca média de $164,07 \pm 31,91$ bpm (IC 95%: 142,63 a 185,51 bpm). O grupo estenose apresentou frequência cardíaca média de $167,06 \pm 21,35$ bpm (IC 95%: 156,08 a 178,05 bpm). O grupo insuficiência apresentou frequência cardíaca média de $184,89 \pm 33,35$ bpm (IC 95%: 168,30 a 201,47 bpm). Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos ($p=0,10$) (Gráfico 10).

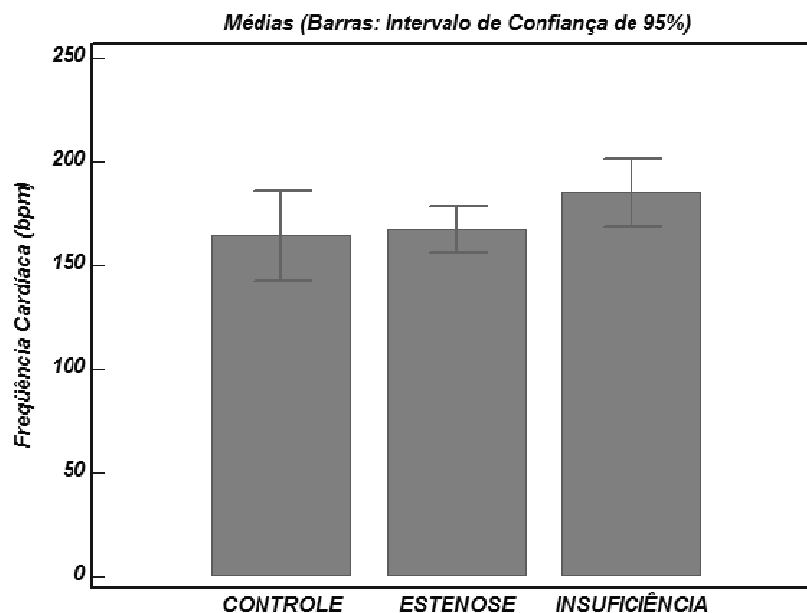


Gráfico 10–Frequência cardíaca. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.

Volume diastólico final do ventrículo esquerdo: O grupo controle apresentou volume diastólico final do ventrículo esquerdo com média de $2,12 \pm 0,84$ ml (IC 95%: 1,56 a 2,69 ml). O grupo estenose apresentou volume diastólico final do ventrículo esquerdo com média de $2,42 \pm 0,21$ ml (IC 95%: 1,97 a 2,87 ml). O grupo insuficiência apresentou volume diastólico final do ventrículo esquerdo com média de $3,80 \pm 1,62$ ml (IC 95%: 2,99 a 4,60 ml). Houve diferenças estatisticamente significantes do grupo insuficiência em relação ao grupo controle e ao grupo estenose ($p=0,0013$) (Gráfico 11).

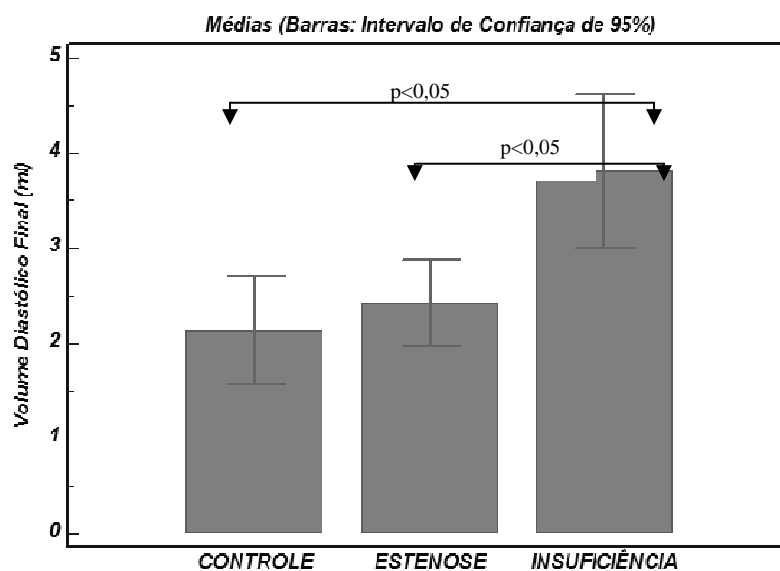


Gráfico 11–Volume Diastólico Final do Ventrículo Esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferenças estatisticamente significantes entre o grupo insuficiência e os grupos controle e grupo estenose.

Volume sistólico final do ventrículo esquerdo: O grupo controle apresentou volume sistólico final com média de $1,50 \pm 0,67$ ml (IC 95%: 1,05 a 1,95 ml). O grupo estenose apresentou volume sistólico final com média de $1,77 \pm 0,79$ ml (IC 95%: 1,36 a 2,18 ml). O grupo insuficiência apresentou volume sistólico final com média de $2,75 \pm 1,28$ ml (IC 95%: 2,11 a 3,39 ml). Houve diferenças estatisticamente significantes do grupo insuficiência em relação ao grupo controle e ao grupo estenose ($p=0,003$) (Gráfico 12).

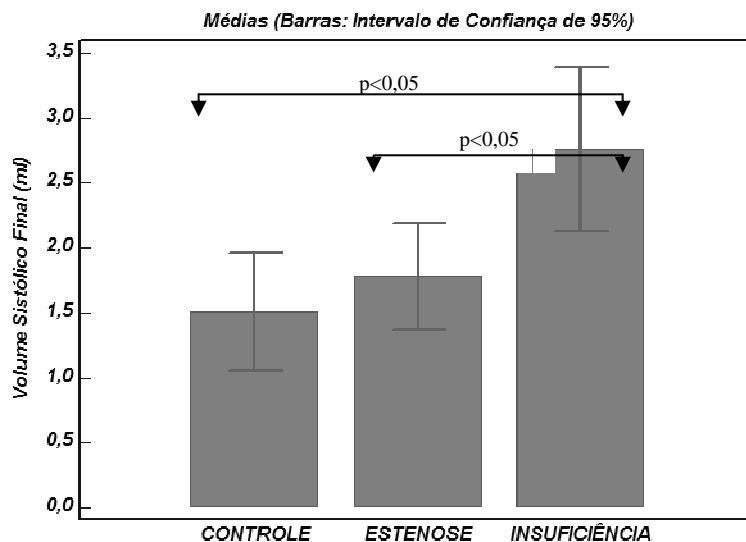


Gráfico 12 – Volume sistólico final do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferenças estatisticamente significantes do grupo insuficiência em relação aos grupos controle e ao grupo estenose.

Pressão máxima desenvolvida no ventrículo esquerdo: O grupo controle apresentou pressão máxima desenvolvida com média de $77,06 \pm 16,29$ mmHg (IC 95%: 66,11 a 88,09 mmHg). O grupo estenose apresentou pressão máxima desenvolvida com média de $81,82 \pm 13,97$ mmHg (IC 95%: 74,64 a 89,01 mmHg). O grupo insuficiência apresentou pressão máxima desenvolvida com média de $78,91 \pm 11,24$ mmHg (IC 95%: 73,32 a 84,50 mmHg). Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos ($p=0,645$) (Gráfico 13).

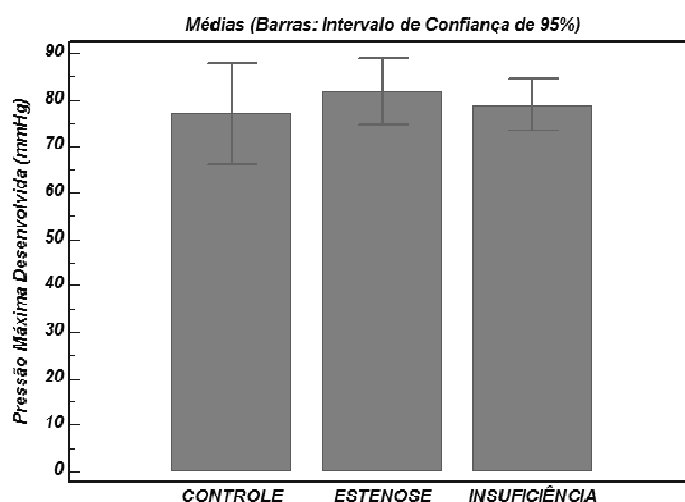


Gráfico 13 – Pressão máxima desenvolvida no ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.

Pressão mínima em ventrículo esquerdo: O grupo controle apresentou pressão mínima com média de $7,05 \pm 1,79$ mmHg (IC 95%: 5,84 a 8,25 mmHg). O grupo estenose apresentou pressão mínima com média de $6,90 \pm 2,21$ mmHg (IC 95%: 5,76 a 8,03 mmHg). O grupo insuficiência apresentou pressão mínima com média de $8,73 \pm 4,75$ mmHg (IC 95%: 6,36 a 11,09 mmHg). Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos ($p=0,23$) (Gráfico 14)

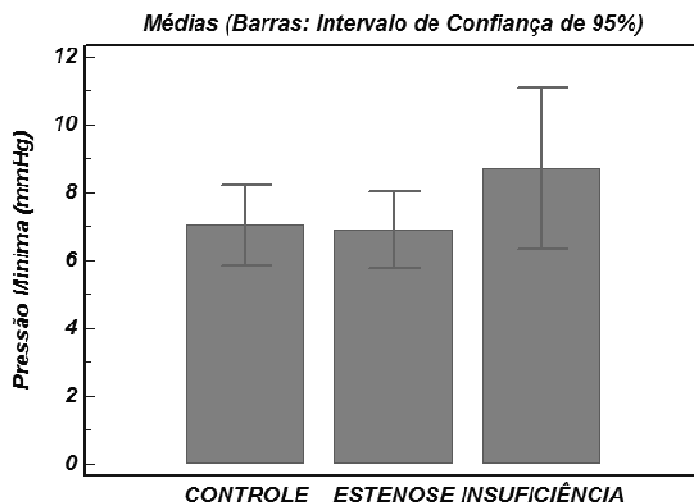


Gráfico 14 – Pressão mínima em ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.

dP/dT máxima: O grupo controle apresentou dP/dT máxima com média de 1714 ,65 \pm 739,27mmHg/s (IC 95%: 1218,00 a 2211,30 mmHg/s). O grupo estenose apresentou dP/dT máxima com média de 1534,67 \pm 488,13 mmHg/s(IC 95%: 1283,70 a 1785,65 mmHg/s). O grupo insuficiência apresentou dP/dT máxima com média de 1390,11 \pm 457,80 mmHg/s(IC 95%: 1162,45 a 1617,77 mmHg/s). Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos (p= 0,30) (Gráfico 15).

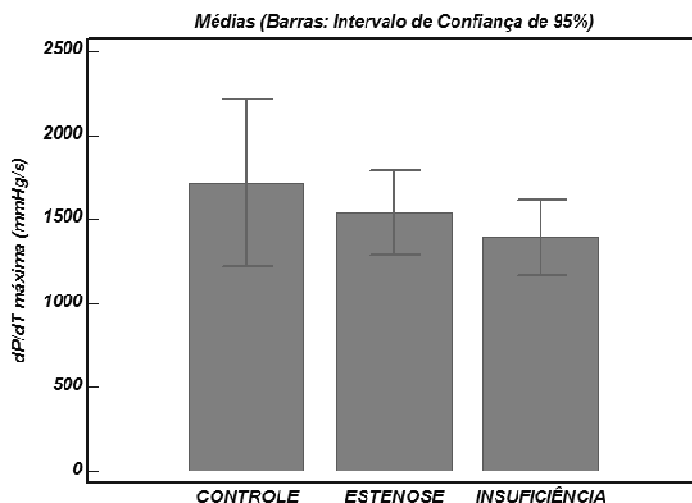


Gráfico 15 – dP/dT máxima. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.

dP/dT mínima: O grupo controle apresentou dP/dT mínima com média de $-1177,00 \pm 714,02$ mmHg/s (IC 95%: $-1869,40$ a $-910,03$ mmHg/s). O grupo estenose apresentou dP/dT mínima com média de $-1188,53 \pm 458,48$ mmHg/s (IC 95%: $-1424,26$ a $-952,80$ mmHg/s). O grupo insuficiência apresentou dP/dT mínima com média de $-1168,24 \pm 285,52$ mmHg/s (IC 95%: $-1310,22$ a $-1026,25$ mmHg/s). Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos ($p=0,445$) (gráfico 16).

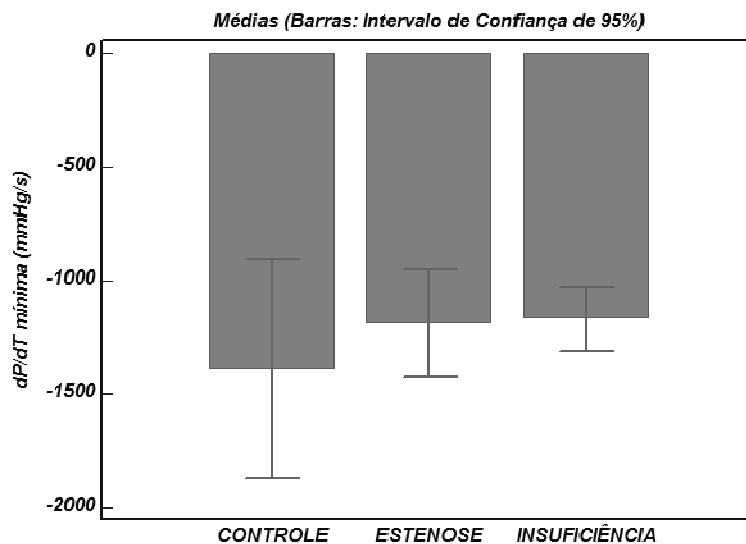


Gráfico 16 – dP/dT mínima. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.

Fração de Ejeção do Ventrículo Esquerdo: O grupo controle apresentou fração de ejeção com média de $76,22 \pm 7,06\%$ (IC 95%: 71,48 a 80,97 %). O grupo estenose apresentou fração de ejeção com média de $77,59 \pm 5,53 \%$ (IC 95%: 74,75 a 80,44 %). O grupo insuficiência apresentou fração de ejeção com média de $77,46 \pm 7,68 \%$ (IC 95%: 73,64 a 81,28 %). Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparado os três grupos ($p=0,41$) (Gráfico 17).

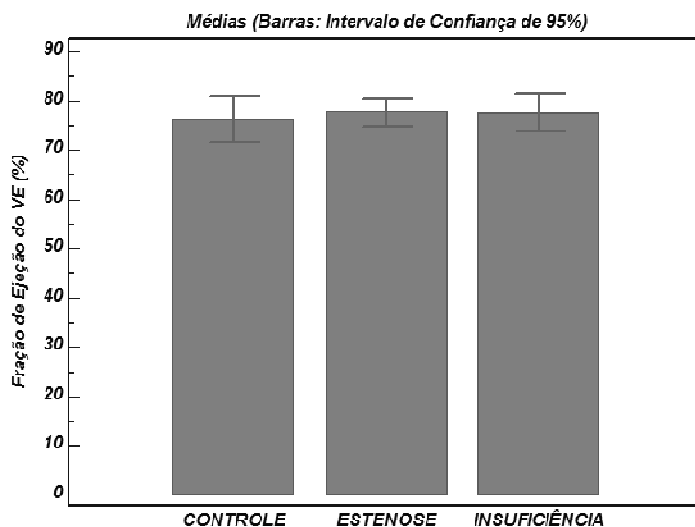


Gráfico 17 – Fração de ejeção do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.

Volume sistólico ejetado do ventrículo esquerdo: O grupo controle apresentou volume sistólico ejetado com média de $0,46 \pm 0,18$ ml (IC 95%: 0,34 a 0,58 ml). O grupo estenose apresentou volume sistólico ejetado $0,49 \pm 0,11$ ml (IC 95%: 0,43 a 0,55 ml). O grupo insuficiência apresentou volume sistólico ejetado com média de $0,80 \pm 0,47$ ml (IC 95%: 0,56 a 1,04 ml). Houve diferenças estatisticamente significantes do grupo insuficiência em relação ao grupo controle e ao grupo estenose ($p=0,008$) (Gráfico 18).

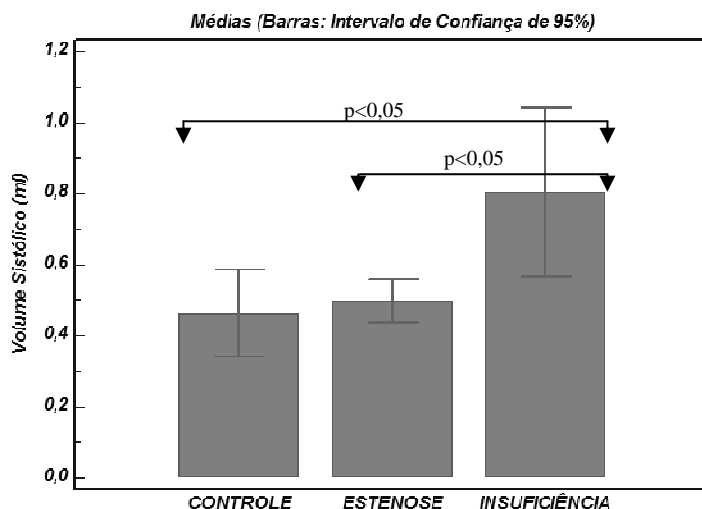


Gráfico 18 – Volume sistólico ejetado do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferenças estatisticamente significantes do grupo insuficiência em relação ao grupo controle e ao grupo estenose.

Débito Cardíaco: O grupo controle apresentou débito cardíaco com média de $69,64 \pm 36,5$ ml/min(IC 95%: 45,09 a 94,18 ml/min). O grupo estenose apresentou débito cardíaco com média de $82,06 \pm 20,71$ ml/min(IC 95%: 71,41 a 92,71 ml/min). O grupo insuficiência apresentou débito cardíaco com média de $145,2 \pm 78,18$ ml/min(IC 95%: 106 a 184 ml/min). Houve diferenças estatisticamente significantes do grupo insuficiência em relação ao grupo controle e ao grupo estenose ($p=0,001$) (Gráfico 19).

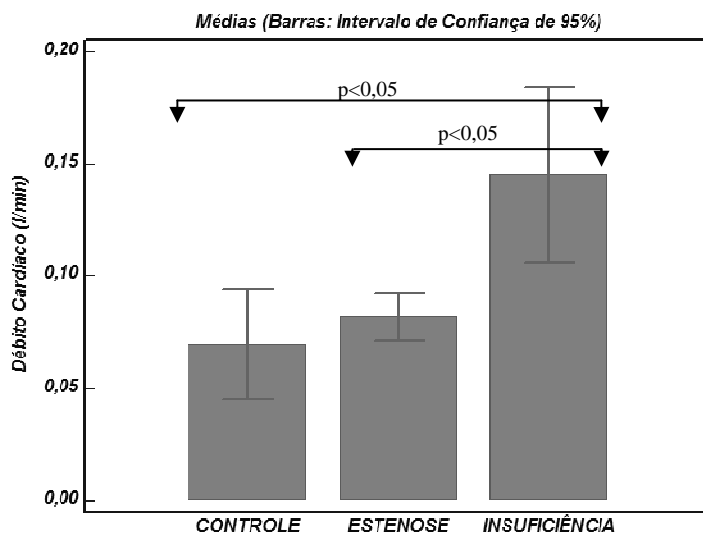


Gráfico 19 – Débito cardíaco. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferenças estatisticamente significantes entre o grupo insuficiência e os grupos estenose e controle.

Fração de Encurtamento do ventrículo esquerdo: O grupo controle apresentou fração de encurtamento com média de $8,93 \pm 2,88$ % (IC 95%: 7,00 a 10,87 %). O grupo estenose apresentou fração de encurtamento com média de $8,34 \pm 2,11$ % (IC 95%: 7,25 a 9,42%). O grupo insuficiência apresentou fração de encurtamento com média de $8,41 \pm 3,06$ % (IC 95%: 6,89 a 9,94 %). Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos ($p= 0,24$). (Gráfico 20).

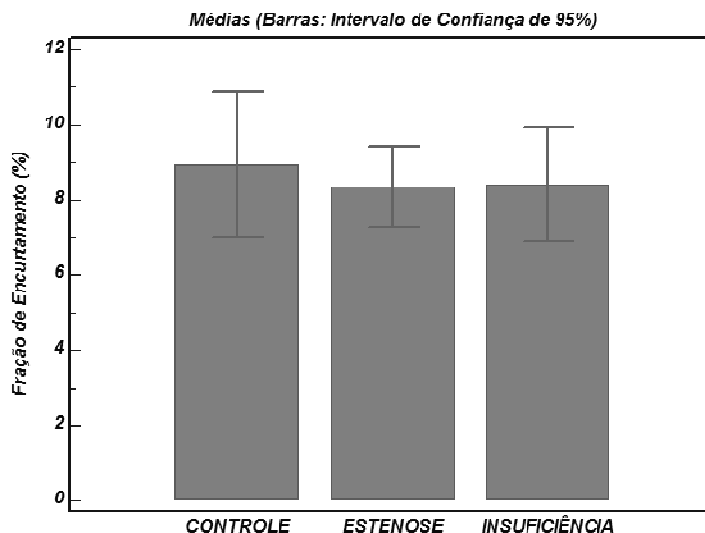


Gráfico 20 – Fração de encurtamento do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.

Tempo de relaxamento isovolumétrico (τ) : O grupo controle apresentou tempo de relaxamento isovolumétrico com média de $63,05 \pm 57,19$ mseg (IC 95%: 24,63 a 101,48 mseg). O grupo estenose apresentou tempo de relaxamento isovolumétrico com média de $58,05 \pm 21,14$ mseg (IC 95%: 47,18 a 68,92 mseg). O grupo insuficiência apresentou tempo de relaxamento isovolumétrico com média de $58,14 \pm 26,27$ mseg (IC 95%: 45,08 a 71,21 mseg). Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos ($p= 0,38$) (Gráfico 21).

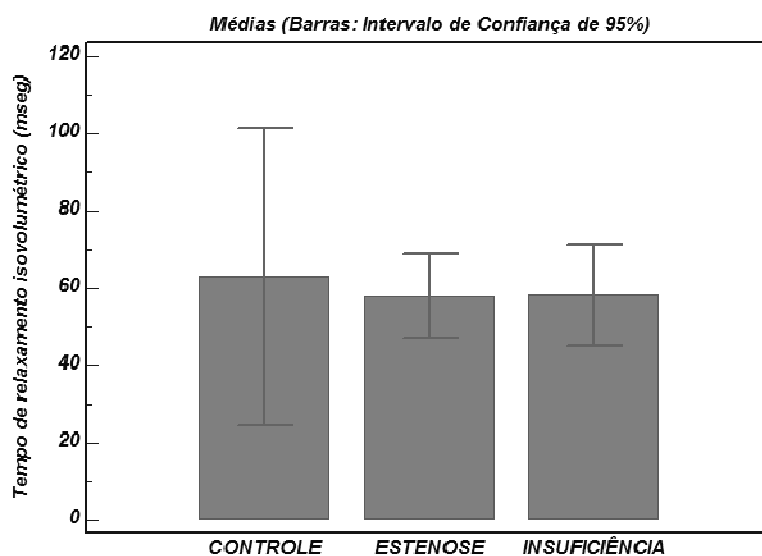


Gráfico 21 – Tempo de relaxamento isovolumétrico do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.

Trabalho Sistólico: O grupo controle apresentou trabalho sistólico com média de $35,77 \pm 21,69$ erg.cm-3.103 (IC 95%: 21,20 a 50,35 erg.cm-3.103). O grupo estenose apresentou trabalho sistólico com média de $38,84 \pm 16,82$ erg.cm-3.103 (IC 95%: 30,18 a 47,49 erg.cm-3.103). O grupo insuficiência apresentou trabalho sistólico com média de $55,85 \pm 31,13$ erg.cm-3.103 (IC 95%: 40,36 a 71,33 erg.cm-3.103). Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos ($p= 0,21$) (Gráfico 22).

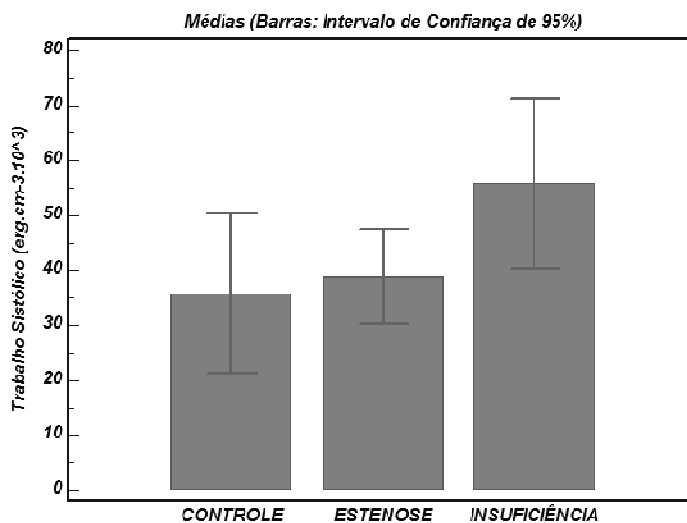


Gráfico 22 – Trabalho sistólico do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.

Área total da curva volume-pressão (PVA): O grupo controle apresentou PVA com média de $63,30 \pm 29,76$ ml.mmHg (IC 95%: 38,42 a 88,19 ml.mmHg). O grupo estenose apresentou PVA com média de $67,46 \pm 28,98$ ml.mmHg (IC 95%: 52,01 a 82,90 ml.mmHg). O grupo insuficiência apresentou PVA com média de $116,24 \pm 65,88$ ml.mmHg (IC 95%: 83,47 a 149,00 ml.mmHg). Houve diferenças estatisticamente significantes do grupo insuficiência em relação ao grupo controle e ao grupo estenose ($p=0,008$) (Gráfico 23).

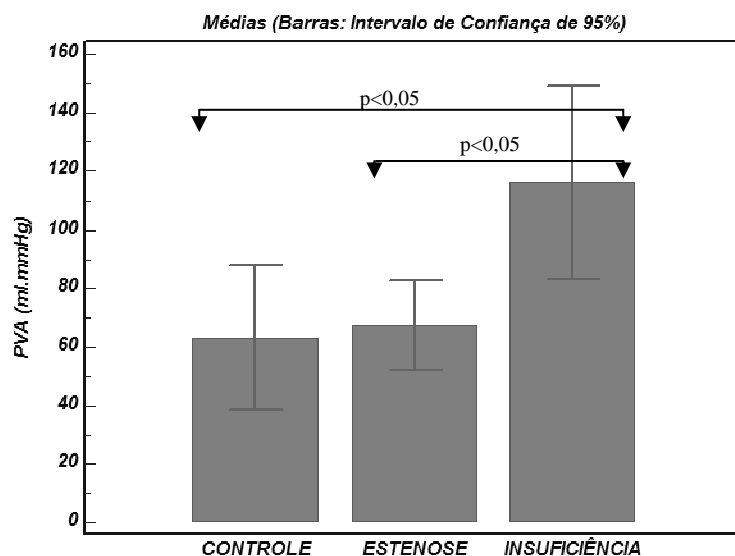


Gráfico 23 – Trabalho mecânico total do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferenças estatisticamente significantes do grupo insuficiência em relação ao grupo estenose e ao grupo controle.

Energia potencial: O grupo controle teve energia potencial com média de $20,82 \pm 12,43$ erg.cm-3.103 (IC 95%: 10,42 a 31,22 erg.cm-3.103). O grupo estenose teve energia potencial com média de $25,66 \pm 16,35$ erg.cm-3.103 (IC 95%: 16,95 a 34,37 erg.cm-3.103). O grupo insuficiência teve energia potencial com média de $66,04 \pm 51,77$ erg.cm-3.103 (IC 95%: 40,30 a 91,79 erg.cm-3.103). Houve diferenças estatisticamente significantes quando comparado o grupo insuficiência ao grupo controle e ao grupo estenose ($p=0,002$) (Gráfico 24).

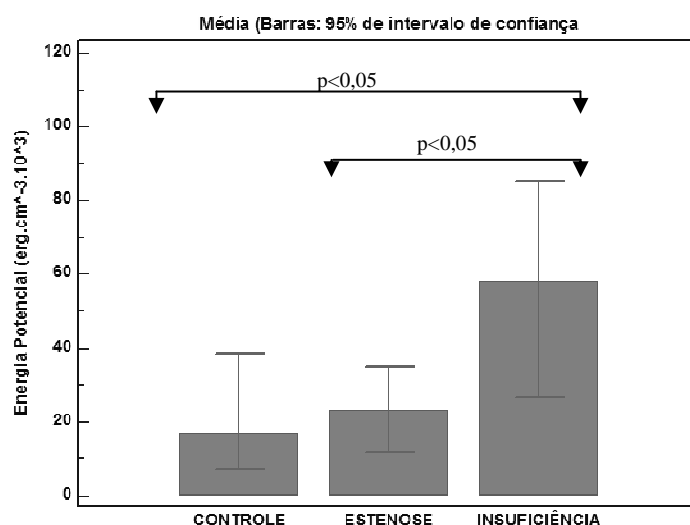


Gráfico 24 – Energia potencial do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferenças estatisticamente significantes entre o grupo insuficiência e os grupos controle e estenose.

Elastância máxima (Emax): O grupo controle apresentou Emax com média de $124,38 \pm 54,08$ mmHg/ml (IC 95%: 88,05 a 160,71 mmHg/ml). O grupo estenose apresentou Emax com média de $82,33 \pm 36,27$ mmHg/ml (IC 95%: 62,24 a 102,42 mmHg/ml). O grupo insuficiência apresentou Emax com média de $44,67 \pm 16,14$ mmHg/ml (IC 95%: 35,35 a 53,99 mmHg/ml). Houve diferença estatisticamente significativa do grupo insuficiência em relação ao grupo controle e ao grupo estenose, e do grupo estenose em relação ao grupo controle e ao grupo insuficiência ($P < 0,001$) (Gráfico 25).

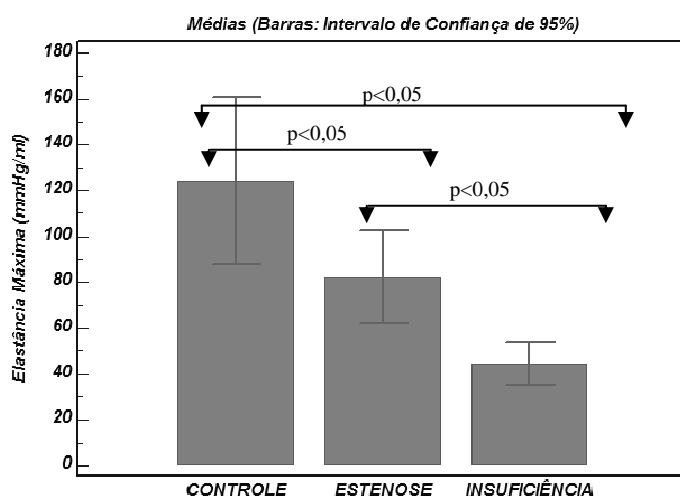


Gráfico 25 – Elastância máxima. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferenças estatisticamente significantes entre o grupo controle e os grupos estenose e insuficiência e entre o grupo estenose e o grupo insuficiência.

Trabalho sistólico pré-recrutável (PRSW): O grupo controle apresentou PRSW com média de $47,70 \pm 12,57$ erg.cm-3.103 (IC 95%: 38,03 a 57,36 erg.cm-3.103). O grupo estenose apresentou PRSW com média de $35,44 \pm 10,96$ erg.cm-3.103 (IC 95%: 27,00 a 43,87 erg.cm-3.103). O grupo insuficiência apresentou PRSW com média de $33,87 \pm 7,46$ erg.cm-3.103 (IC 95%: 29,36 a 38,37 erg.cm-3.103). Houve diferenças estatisticamente significativas do grupo controle em relação ao grupo estenose e ao grupo insuficiência ($p=0,01$) (Gráfico 26).

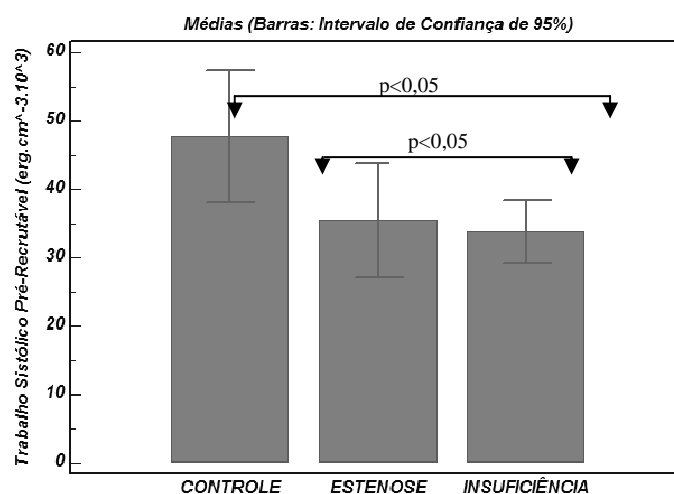


Gráfico 26 – Trabalho sistólico pré-recrutável do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferença estatisticamente significativa quando comparado o grupo controle com o grupo estenose e com o grupo insuficiência.

Relação pressão - volume diastólico final (EDPVR): O grupo controle apresentou EDPVR com média de $0,84 \pm 0,54$ mmHg/ml (IC 95%: 0,48 a 1,20mmHg/ml). O grupo estenose apresentou EDPVR com média de $1,04 \pm 1,07$ mmHg/ml (IC95%: 0,49 a 1,59mmHg/ml). O grupo insuficiência apresentou EDPVR com média de $1,00 \pm 0,70$ mmHg/ml (IC 95%: 0,66 a 1,35mmHg/ml). Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos ($p=0,81$) (Gráfico 27).

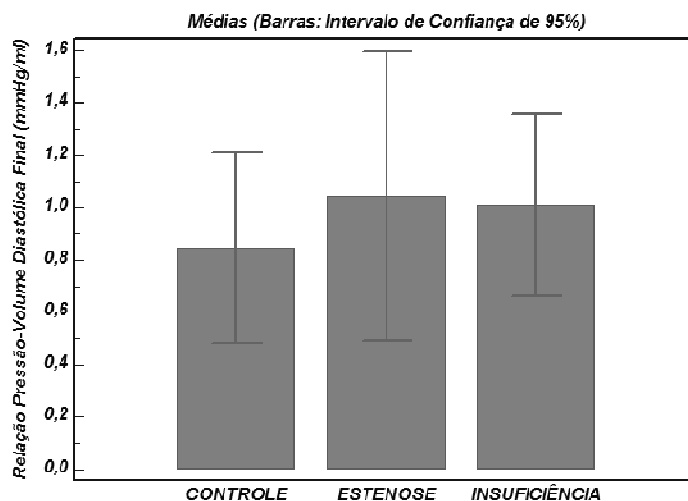


Gráfico 27 – Relação pressão-volume diastólica final do ventrículo esquerdo. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Não houve diferenças estatisticamente significantes quando comparados os três grupos.

Relação Fibrose – Tecido: O grupo controle apresentou relação fibrose-tecido com média de $0,39 \pm 0,49\%$ (IC 95%: 0,00 a 0,80%). O grupo estenose apresentou relação fibrose-tecido com média de $5,91 \pm 4,55\%$ (IC 95%: 3,57 a 8,25%). O grupo insuficiência apresentou relação fibrose-tecido $2,26 \pm 2,01\%$ (IC 95%: 1,14 a 3,37%). Houve diferenças estatisticamente significantes do grupo estenose quando comparado ao grupo controle e ao grupo insuficiência ($p < 0,001$) (Gráfico 28).

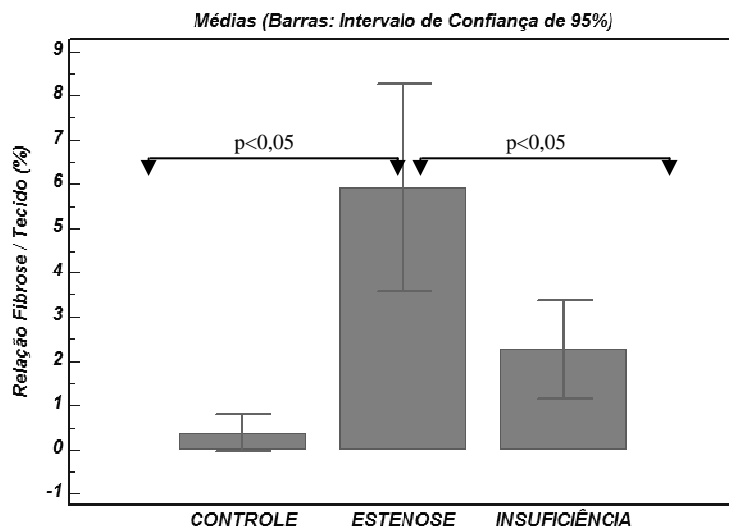


Gráfico 28 – Relação fibrose / tecido. Valores expressos em média e intervalo de confiança de 95%. Houve diferença estatisticamente significativa entre o grupo estenose e os grupos controle e insuficiência.

DISCUSSÃO

O entendimento da fisiopatologia da insuficiência cardíaca é assunto de grande importância, para que se torne possível o desenvolvimento de novas terapias. Esse entendimento passa pelo desenvolvimento de modelos experimentais animais que mimetizem a insuficiência cardíaca humana.

O modelo desenvolvido neste trabalho correlaciona medidas de desempenho ventricular esquerda pouco utilizadas na literatura com achados histopatológicos, em animais que ainda não haviam evoluído para descompensação clínica da insuficiência cardíaca.

O desenvolvimento de hipertrofia ventricular é um dos principais mecanismos pelos quais o coração compensa o aumento de trabalho (Cohn, 1995). Grossman et al.(1975) avaliaram o estresse da parede miocárdica na sístole e na diástole em pacientes normais e submetidos a sobrecarga pressórica ou volêmica, mas que estavam em fase compensada da insuficiência cardíaca. A massa ventricular esquerda foi aproximadamente igual nos grupos com sobrecarga pressórica ou volêmica. Houve um aumento substancial da espessura da parede ventricular na sobrecarga pressórica, mas apenas um pequeno aumento na sobrecarga volêmica. Esse aumento foi apenas o suficiente para contrabalançar o maior raio da cavidade ventricular, de maneira a manter a razão entre a espessura da parede e o raio do ventrículo esquerdo no grupo de sobrecarga volêmica. Essa mesma razão aumentou substancialmente no grupo de sobrecarga pressórica, onde houve um aumento desproporcional da espessura da parede ventricular.

Assim, quando o estímulo inicial para a hipertrofia ventricular é a sobrecarga pressórica, o resultante aumento do estresse sistólico da parede leva a replicação paralela das miofibrilas, espessamento dos cardiomiócitos individuais e hipertrofia concêntrica, normalmente o suficiente para manter um nível normal de estresse sistólico (Anversa et al., 1986). Quando o estímulo inicial é a sobrecarga volêmica, o aumento do estresse diastólico da parede leva a replicação dos sarcômeros em série, alongamento dos cardiomiócitos e dilatação ventricular. Isto resulta em um modesto aumento do estresse sistólico (relação de Laplace) (Hayashida et al., 1990), o que causa um espessamento proporcional da parede e estresse sistólico próximo do normal (Cohn et al., 2000).

Assim, em pacientes compensados, tanto a sobrecarga pressórica quanto a sobrecarga volêmica alteram a geometria ventricular e a espessura da parede ventricular, de maneira que não há aumento importante do estresse sistólico.

Em nosso trabalho, houve aumento dos volumes diastólico final e sistólico final no grupo insuficiência em relação aos grupos controle e estenose, com manutenção da espessura da parede septal e lateral, explicados pela hipertrofia concêntrica e excêntrica que ocorre na insuficiência aórtica e conseqüente sobrecarga volêmica ventricular esquerda. Observou-se também aumento da relação peso coração/coelho neste grupo em relação ao grupo estenose e grupo controle. No grupo estenose, houve aumento da espessura das paredes ventriculares esquerdas septal e lateral, com manutenção dos volumes sistólico final e diastólico final, acompanhados de aumento da relação peso coração/coelho em relação ao grupo controle, condizentes com a sobrecarga pressórica e com a hipertrofia concêntrica deste modelo experimental. Observamos assim alterações macroscópicas no ventrículo esquerdo esperados em ambos os modelos.

Nenhum dos animais apresentou sinais clínicos de insuficiência cardíaca durante o período de oito semanas após o procedimento inicial. Não foram observados, no momento do estudo hemodinâmico, derrame pleural unilateral ou bilateral, ascite, hepatomegalia. Consideramos, assim, que os animais apresentavam insuficiência cardíaca em fase compensada.

Para avaliação da função do ventrículo esquerdo como bomba foram utilizados parâmetros de volume sistólico ejetado, débito cardíaco, pressão desenvolvida e fração de ejeção. O volume sistólico ejetado é calculado pela diferença entre o volume diastólico final e sistólico final

Em experimentos com músculo cardíaco isolado ou coração isolado, onde são controlados a pré-carga e pós-carga, a contratilidade do músculo e as alterações decorrentes de intervenções realizadas podem ser avaliados pelo estiramento, extensão ou velocidade de encurtamento do músculo. Medidas análogas a estas são mais difíceis em pacientes, onde a pré-carga e a pós-carga são interrelacionadas e podem não ser facilmente controladas. Essas justificativas levaram a procura de métodos de avaliação da função cardíaca que fossem

além da análise de função de bomba do ventrículo esquerdo e permitissem a avaliação da contratilidade miocárdica. Vários índices foram propostos como medidas da função contrátil ventricular (Carabello, 1994), e, dentre estes, foram utilizados em nosso trabalho a elastância máxima, o trabalho sistólico pré-recrutável, e a dP/dT máxima.

A dP/dT máxima é a taxa máxima de aumento da pressão ventricular, sendo altamente sensível a mudanças agudas da contratilidade. Sob condições normais, a dP/dT máxima ocorre antes da abertura da válvula aórtica, não sendo portanto afetada pela pós-carga (Fioretto et al., 1997), exceto em pacientes com depressão importante do miocárdio ou vasodilatação arterial importante. Entretanto, a dP/dT máxima é sensível a mudanças na pré-carga. Assim, uma mudança da dP/dT máxima sem alteração da pré-carga ou acompanhada de uma mudança da pré-carga em direção oposta representa uma alteração da contratilidade miocárdica (Little, 1985). Em nosso estudo não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados em relação a dP/dT máxima, o que pode ser explicado pela natureza crônica das lesões provocadas, bem como por um não controle das condições de pré-carga.

A regressão linear dos pontos do ângulo superior esquerdo nas curvas de pressão-volume do ventrículo esquerdo, ou seja, o ponto que determina o final do período ejetivo do ventrículo esquerdo com variação da pré-carga definem a relação pressão-volume sistólica final ventricular esquerda. Dentro de valores fisiológicos, essa relação aproxima-se de uma reta, e sua angulação foi denominada elastância máxima (Sagawa et al., 1977). Com o aumento da contratilidade existe o aumento da elastância. Essa medida de contratilidade é, dentro dos parâmetros fisiológicos, independente da pré-carga e da pós-carga (Kass et al., 1988; Kass et al., 1989 e nos permite avaliar a contratilidade miocárdica independente da sobrecarga pressórica no grupo estenose e da sobrecarga volêmica no grupo insuficiência. Neste estudo houve redução (estatisticamente significativa) da elastância máxima nos grupos estenose e insuficiência quando comparados ao grupo controle, sendo a redução mais importante no grupo insuficiência que no grupo estenose (estatisticamente significativa).

O trabalho sistólico é o trabalho externo desenvolvido pelo ventrículo esquerdo e é calculado pela área da curva de pressão-volume para cada ciclo cardíaco. Durante a oclusão da veia cava, o trabalho sistólico e o diâmetro diastólico final do ventrículo esquerdo têm uma relação linear. O trabalho sistólico é independente da pós-carga dentro dos limites fisiológicos, portanto, a relação trabalho sistólico – diâmetro diastólico final também o é sob estas condições (Little e Cheng, 1991; Little e Cheng, 1993; Tombe et al., 1993). Em resposta ao aumento da contratilidade, a angulação desta relação que é denominada trabalho sistólico pré-recrutável (PRSW) , aumenta. Assim, o PRSW tem sido proposto como medida da contratilidade independente de carga (Glower et al., 1985). Entretanto, o PRSW não é determinado apenas pelo estado contrátil, sofrendo influência da relação pressão-volume diastólica do ventrículo esquerdo (Little et al., 1989), podendo ser melhor considerada como uma medida de função de bomba integrada do ventrículo esquerdo. No presente trabalho, houve uma diminuição estatisticamente significativa do PSRW em ambos os grupos insuficiência e estenose quando comparados ao grupo controle, demonstrando uma piora do ventrículo esquerdo nestes dois grupos.

Para que o ventrículo esquerdo funcione como bomba, ele deve não apenas ejetar o sangue, mas também ser capaz de recebê-lo. A pressão atrial esquerda (e venosa pulmonar) é a fonte pressórica para o enchimento ventricular esquerda. Assim, uma função diastólica ventricular esquerda normal pode ser definida como o enchimento ventricular esquerdo suficiente para produzir débito cardíaco compatível com as necessidades do organismo com uma pressão venosa pulmonar normal (Little e Downes, 1990). A disfunção diastólica ventricular esquerda pode ser resultante de aumento da “dureza” miocárdica ou relaxamento ventricular inadequado.

O relaxamento isovolumétrico pode ser quantificado pela sua duração ou pela descrição da queda da pressão ventricular em um determinado intervalo de tempo. O relaxamento isovolumétrico compreende o intervalo entre o fechamento da válvula aórtica e a abertura da válvula mitral, dependendo não apenas da taxa de relaxamento ventricular como da diferença de pressão entre a aorta no momento do fechamento da válvula aórtica e o átrio esquerdo no momento da abertura da valvular mitral (Myreng e Smiseth, 1990). O relaxamento isovolumétrico tem sido descrito pela taxa máxima de declínio da pressão

intraventricular (dP/dT mínima) e pela constante de tempo do relaxamento isovolumétrico (τ), denominada TAU (Little e Downes, 1990).

A dP/dT mínima é fortemente influenciada pela pressão no momento da abertura da válvula aórtica. A τ é aumentada pela isquemia e por outras causas de depressão miocárdica que tornam o relaxamento ventricular mais lento, e aumentada por acentuação da taxa de relaxamento ativo, como ocorre no aumento de frequência cardíaca ou na estimulação simpática. A τ também é alterada por mudanças nas cargas ventriculares, como o aumento decorrente de incrementos na pressão arterial ou no volume diastólico final (Gilbert e Glantz, 1989). No presente trabalho não houve diferenças estatisticamente significantes entre os grupos, em relação a dP/dT mínima e ao tempo de relaxamento ventricular (τ), possivelmente explicados por mecanismos compensatórios na pré-carga e pós-carga para as sobrecargas pressórica ou volêmica a que foram submetidos os animais.

As características diastólicas passivas do ventrículo esquerdo podem ser descritas pela relação pressão-volume diastólica. Idealmente, a relação pressão-volume diastólica passiva ventricular esquerda deve ser construída de pontos onde o relaxamento ventricular está completo. Na prática, essa relação é obtida pelos pontos da curva pressão-volume no final da diástole e em ciclos cardíacos com diferentes níveis de pré-carga (Fraites et al., 1997). A relação pressão-volume diastólico final (EDPVR) é descrita pela angulação da linha obtida, significando a “dureza” do ventrículo esquerdo. A EDPVR não é alterada por mudanças na relação pressão-volume decorrentes de mudanças de carga ventricular ou uso de agentes farmacológicos (Gilbert e Glantz, 1989). No presente trabalho, não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos em relação à EDPVR. Quando esse dado é analisado em conjunto com a semelhança entre os três grupos relativos a dP/dT mínima e τ , podemos concluir que a sobrecarga pressórica ou volêmica provocadas não foram capazes de provocar alterações na performance diastólico ventricular dos grupos estudados, no intervalo de tempo do trabalho.

O trabalho sistólico, a energia potencial e a energia mecânica total (PVA) foram utilizados como medidas de gasto energético (Suga, 1979). O ventrículo esquerdo contrátil tem uma natureza elástica tempo-dependente. Assim, a energia mecânica potencial deve

aumentar dentro dessa elasticidade tempo-dependente quando a elasticidade aumenta dentro da parede ventricular, de maneira análoga a uma mola. A energia elástica é medida teoricamente pela área triangular abaixo da linha da elastância máxima. Essa é a energia potencial elástica gerada durante a sístole e é armazenada ao final da sístole no ventrículo. No máximo da energia potencial, no final da sístole, o ventrículo executou o trabalho sistólico externo, dado pela área dentro da curva pressão-volume. A soma do trabalho sistólico externo com a energia potencial é a energia mecânica total (PVA – Área Pressão-Volume). A PVA correlaciona-se diretamente com o consumo de oxigênio pelo miocárdio (Suga, 1979; Suga, 1990) . No presente estudo, o trabalho sistólico foi maior no grupo insuficiência, porém sem diferença estatística entre os grupos. A PVA foi maiores no grupo insuficiência, com diferença estatisticamente significativa em relação aos grupos controle e estenose, o que leva a crer em um maior consumo de oxigênio pelo miocárdio no grupo insuficiência.

Apesar da hipertrofia miocárdica ser um processo complexo associado com numerosas consequências adversas, incluindo alterações na matriz intercelular levando a fibrose intersticial, diminuição da resposta dos receptores β -adrenérgicos e mudanças metabolicamente desfavoráveis das isoformas das proteínas contráteis, o evento celular definitivo e irreversível na descompensação da hipertrofia é a degeneração e morte do cardiomiócito. Há três mecanismos bem descritos de morte celular: necrose, apoptose e autofagia. Há evidências clínico-patológicas de que as três formas de morte celular ocorrem na cardiomiopatia humana terminal (Diwan e Dorn, 2007). A substituição dos cardiomiócitos e a fibrose miocárdica são características de todas as formas de hipertrofia miocárdica patológica e progridem em paralelo à descompensação clínica (Hein et al., 2003).

Liu et al. (1998), em modelo de insuficiência aórtica em coelhos demonstrou que a extensão da fibrose miocárdica e da necrose dos cardiomiócitos, em animais submetidos a alterações hemodinâmicas semelhantes, tinham forte correlação com o desenvolvimento de sinais clínicos de insuficiência cardíaca descompensada, sugerindo que as alterações de degeneração dos cardiomiócitos e a fibrose do ventrículo esquerdo podem preceder o aparecimento da insuficiência cardíaca clínica. No presente trabalho, houve

aumento estatisticamente significativo em relação a porcentagem de fibrose/tecido no grupo estenose, quando comparados com os grupos controle e insuficiência. Esse dado é condizente com a piora dos índices de contratilidade encontrados neste grupo, quando comparados com o grupo controle.

As alterações da matriz extracelular na sobrecarga pressórica e na sobrecarga volêmica têm mecanismos e fenótipos distintos, com a ocorrência de reorganização estrutural e perda de colágeno na sobrecarga pressórica (Graham e Trafford, 2007), e com proporções anormais de matriz extracelular não-colágeno, especialmente fibronectina, com poucas mudanças na síntese de colágeno na sobrecarga volêmica (Borer et al., 2002). Esses diferentes mecanismos podem ser uma explicação para os piores índices de contratilidade no grupo insuficiência (quando comparados ao grupo controle) e taxas semelhantes de fibrose em relação ao grupo controle. Magid et al. (1992), em trabalho experimental, induziu insuficiência aórtica em coelhos e realizou análises ecocardiográficas sequenciais por um período de 2,5 anos. Durante o período de seguimento os animais não apresentaram sinais clínicos de insuficiência cardíaca descompensada. Durante esse período, houve aumento da massa ventricular esquerda, dilatação de câmeras esquerdas, e manutenção dos índices ecocardiográficos de função sistólica. Após seis meses de seguimento houve melhora dos índices de função diastólica, com piora dos mesmos após um ano de seguimento. Esses achados são compatíveis com o presente trabalho, já que não houve declínio da fração de ejeção ou do débito cardíaco. Entretanto, houve piora de índices de contratilidade carga-independentes, que não foram avaliados naquele trabalho, e foram obtidos pela análise das curvas de pressão-volume e uso de cristais piezo-elétricos. Isso sugere a alteração precoce de índices como a elastância máxima e o PRSW, antes que o ocorra falha dos mecanismos compensatórios e piora da função do ventrículo esquerdo como bomba.

O aumento da fibrose no grupo estenose quando comparado com o grupo controle é condizente com estudos em humanos, onde foi evidenciado aumento da fibrose em pacientes com estenose aórtica isolada e função ventricular normal (Hein et al., 2003). No presente estudo, foi encontrado piora da contratilidade miocárdica apesar da função ventricular normal. A fibrose pode ter entre seus mediadores a angiotensina II e a

aldosterona, já o bloqueio de ambas foi relacionada a menores índices de fibrose miocárdica (Parmley, 1998; Lijnen e Petrov, 2000). A avaliação hemodinâmica corrente do grau de estenose aórtica baseia-se em índices como gradiente transvalvular aórtico e área valvar aórtica. Esses índices são sub-ótimos porque se correlacionam pouco com os sintomas clínicos, fornecem poucas informações prognósticas e são dependentes do fluxo sanguíneo (Smucker et al., 1989).

Nos dois modelos utilizados neste trabalho foi possível observar alterações macroscópicas, com alterações nos diâmetro e peso do ventrículo esquerdo, acompanhado de alterações histopatológicas, com a fibrose no grupo estenose. Observaram-se ainda alterações na elastância máxima e PSRW, índices de contratilidade. Entretanto, não foi observados alterações nos índices de função cardíaca nem sinais de insuficiência cardíaca nos animais, caracterizando o quadro clínico como insuficiência cardíaca compensada. Flumignan et al.(2006), em trabalho com ratos submetidos a isquemia miocárdica e com morte espontânea após 48h de isquemia miocárdica, demonstrou um aumento do conteúdo hídrico pulmonar e hepático neste grupo, apesar da baixa incidência de sinais clínicos da síndrome de insuficiência cardíaca congestiva, sugerindo que esta síndrome pode não ser corretamente diagnosticada quando baseada apenas em sinais clínicos. No nosso estudo não foi avaliado o conteúdo hídrico do pulmão e fígado.

Os modelos descritos, acompanhado pelo tempo proposto neste trabalho, não são adequados para o estudo da transição de insuficiência cardíaca compensada para descompensada, nem para a validação de terapêuticas nesta fase da insuficiência cardíaca, já que esta evolução não ocorreu em nenhum animal. Talvez sejam necessárias uma observação por maior tempo que oito semanas ou a associação das lesões provocadas para que haja descompensação do quadro clínico. Entretanto, os modelos podem ser interessantes em estudos de descrição de alterações iniciais da fisiopatologia da insuficiência cardíaca, bem como a avaliação de mecanismos compensatórios que mantêm a função cardíaca na fase compensada da patologia, permitindo o estudo de medidas terapêuticas precoces que impeçam a evolução da insuficiência cardíaca.



CONCLUSÃO

Geral:

- Desenvolvemos e padronizamos dois modelos de insuficiência cardíaca compensada em coelhos, sendo um por meio de sobrecarga volêmica e outro por meio de sobrecarga pressórica.

Específicos:

- O modelo que foi submetido a sobrecarga volêmica não demonstrou aumento de fibrose no período estudado. O modelo submetido a sobrecarga pressórica demonstrou aumento de fibrose no período estudado
- O modelo submetido a sobrecarga volêmica apresentou aumento dos volumes sistólico e diastólico finais, do volume sistólico ejetado, do débito cardíaco e do peso do ventrículo esquerdo, no período estudado. O modelo submetido a sobrecarga pressórica não apresentou aumento dos volumes ventriculares, mas apresentou aumento da espessura das paredes septal e lateral do ventrículo esquerdo, no período estudado.
- Os dois modelos estudados apresentaram piora dos índices de contratilidade ventricular esquerda, no período estudado.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

American Heart Association. Heart Disease and Stroke Statistics—2006 Update. Circulation 2006; 113: e85-e151

Anversa P, Ricci R, Olivetti G. Quantitative structural analyses of the myocardium during physiologic growth and induced cardiac hypertrophy: A review. J Am Coll Cardiol 1986; 7:1440-9

Arnold L, McGrath B, Cocks M, Sumithran E, Jonston C. Adriamycin cardiomyopathy in the rabbit: an animal model of low output cardiac failure with activation of vasoconstrictor mechanisms. Cardiovasc Res 1985; 19:378-82

Bers DM. Control of calcium contraction by SR-Ca release and sarcolemmal-Ca fluxes. In: Bers DM. Excitation-contraction coupling and cardiac contractile force: Development in cardiovascular medicine. London: Ed. Dörbrect, 1991.p. 149-70

Bing OH, Brooks WW, Robinson KG, Slawsky MT, Hayes JA, Litwin SE, et al. The spontaneously hypertensive rat as a model of the transition from compensated left ventricular hypertrophy to failure. J Mol Cell Cardiol 1995; 27: 383-96

Borer JS, Truter S, Herrold EM, Falcone DJ, Pena M, Carter JN, et al. Myocardial fibrosis in chronic aortic regurgitation: Molecular and cellular responses to volume overload. Circulation 2002; 105:1837-42

Capasso JM, Palackal T, Olivetti G, Anversa P: Left ventricular failure induced by long-term hypertension in rats. Circ Res 1990; 66:1400-12

Carabello BA. Clinical assessment of systolic dysfunction. ACC Curr J 1994; Rev Jan/Feb:25

Chen Z, Higashiyama A, Yaku H, Bell S, Fabian J, Watkins MW, et al. Altered expression of troponin T isoforms in mild left ventricular hypertrophy in the rabbit. J Mol Cell Cardiol. 1997; 29: 2345-54

Cohn JN. Structural basis for heart failure: Ventricular remodeling and its pharmacological inhibition. Circulation 1995; 91:2504-7

Cohn JN, Ferrari R, Sharpe N. Cardiac remodeling – Concepts and clinical implications: A consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. J Am Coll Cardiol 2000; 35:569-82

DATASUS. Mortalidade Hospitalar do SUS. Ministério da Saúde – Sistema de Informações Hospitalares do SUS (SIH/SUS). Disponível em URL: <http://www.datasus.gov.br> (acesso em 16 jun 2008)

Dekker LR, Rademaker H, Vermeulen JT, Opthof T, Coronel R, Spaan JAE, Jansen MJ. Cellular uncoupling during ischemia in hypertrophied and failing rabbit ventricular myocardium. Circulation 1998; 97: 1724-30

Diwan A, Dorn GW. Decompensation of Cardiac Hypertrophy: Cellular Mechanisms and Novel Therapeutic Targets. Physiology 2007; 22:56-64

Donaldson RM, Florio R, Rickards AF, et al: Irreversible morphological changes contributing to depressed cardiac function after surgery for chronic aortic regurgitation. Br Heart J 1982; 48:589-97

Ezzaher A, Bouanani NH, Crozatier B. Force-frequency relations and response to ryanodine in failing rabbit hearts. Am J Physiol 1992; 263: H1710-5

Fioletto JR, Okoshi MP, Okoshi K, Cicogna AC, Bonatto RC, Padovani CR, Tucci PJF. The rate of force generation by the myocardium is not influenced by afterload. Braz J Med Biol Res 1997; 30:1471-7

Flecknell PA. Laboratory Animal Anesthesia. Segunda Edição. San Diego, CA, EUA. Ed. Academic Press; 1996. p.182-9

Flumignan RLG, Kanashiro RM, Saraiva RM, Portes LA, Antonio EL, Ishigai MMS, Tucci PJF. Incidence of heart failure in infarcted rats that die spontaneously. Braz J Med Biol Res 2006; 39:1323-1328

Fraites TJ Jr. Saeki A, Kass DA. Effect of altered filling pattern on diastolic pressure-volume curve. Circulation 1997; 96:4408-14

Franchini KG. Mecanismos moleculares na hipertrofia cardíaca – Estímulos hipertróficos. *Hipertensão* 2002; 5:112-7

Francis GS, McDonald KM. Left ventricular hypertrophy: an initial response to myocardial injury. *Am J Cardiol* 1992; 69:3G-9G

Francis GS. Changing the remodeling process in heart failure: basic mechanisms and laboratory responses. *Curr Opin Cardiol* 2005; 38:73-9

Gheorghiade M, Bonow RO. Chronic heart failure in the United States: a manifestation of coronary artery disease. *Circulation* 1998; 97:282-9

Gilbert JC, Glantz SA. Determinants of left ventricular filling and of diastolic pressure-volume relations. *Circ Res* 1989; 64:827-52

Gilson N, Bouanani N, Corsin A, Crozatier B. Left ventricular function and beta-adrenergic receptors in the rabbit failing heart. *Am J Physiol* 1990; 258: H634-41

Glower DD, Spratt JA, Snow ND, Kabas JS, Davis JW, Olsen GO, et al. Linearity of Frank-Starling relationship in the intact heart: The concept of preload recruitable stroke heart. *Circulation* 1985; 71:994-1009

Graham HK, Trafford AW. Spatial disruption and enhanced degradation of collagen with the transition from compensated ventricular hypertrophy to symptomatic congestive heart failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007; 292: H1364-72

Grosmann W, Jones D, McLaurin LP. Wall stress and patterns of hypertrophy in humans left ventricle. *J Clin Invest* 1975; 56:56

Hayakawa Y, Chandra M, Miao W, Shirani J, Brown JH, Dorn GW, et al. Inhibition of cardiac myocyte apoptosis improves cardiac function and abolishes mortality in the peripartumcardiomyopathy of $\alpha(q)$ transgenic mice. *Circulation* 2003; 108: 3036–41

Hayashida W, Kumada T, Nohara R, Tanio H, Kambayashi M, Ishikawa N, et al. Left ventricle regional wall stress in dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1990; 82:2075-83

Hein S, Arnon E, Kostin S, Schönburg M, Elsässer A, Polyakova V, et al. Progression from compensated hypertrophy to failure in the pressure-overloaded human heart: Structural deterioration and compensatory mechanism. *Circulation* 2003; 107: 984-991

Hirota H, Chen J, Betz UA, Rajewsky K, Gu Y, RossJJr, et al. Loss of a gp130 cardiac muscle cell survival pathway is a critical event in the onset of heart failure during biomechanical stress. *Cell* 1999; 97: 189–98

Jessup M, Brozena S. Heart Failure. *N Eng J Med* 2003; 348: 2007-18

Kass DA, Maughan WL. From “Emax” to pressure-volume relations: A broader view. *Circulation* 1988; 77:1203-12

Kass DA, Beyar R, Lankford E, Heard M, Maughan WL, Sagawa K. Influence of crontactile state on curcilinearity of in situ end-systolic pressure-volume relations. *Circulation* 1989; 79:167-78

Kelso EJ, Geraghty RF, McDermott BJ, Cameron CH, Nicholls DP, Silke B. Characterization of a cellular model of cardiomyopathy, in the rabbit, produced by chronic administration of the anthracyclina, epirubicin. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29:3385-97

Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, CastelliWP: Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham heart study. *N Engl J Med* 1990; 322: 1561-6

Lijnen P, Petrov V. Induction of cardiac fibrosis by aldosterone. *J Mol Cell Cardiol* 2000; 32:865-79

Little WC. The left ventricle dP/dT_{\max} – end-diastolic volume relation in closed-chest dogs. *Circ Res* 1985; 56:808-15

Little WC, Cheng CP, Mumma M, Igarashi Y, Johansen JV, Johnston WE. Comparison of measures of left ventricular contractile performance derived from pressure-volume loops in conscious dogs. *Circulation* 1989; 80:1378-87

Little WC, Downes TR. Clinical evaluation of left ventricular diastolic performance. *Prog Cardiovasc Dis* 1990; 32:273-90

Little WC, Cheng CP. Left ventricular-arterial coupling in conscious dogs. *Am J Physiol* 1991; 261:H70-6

Little WC, Cheng CP. Effect of exercise on left ventricular-arterial coupling assessed in the pressure-volume plane. *Am J Physiol* 1993; 264:H1629-33

Liu Z., Hilbelink DR, Crockett WB, Gerdes AM. Regional changes in hemodynamics and cardiac myocyte size in rats with aortocaval fistulas. 1. Developing and established hypertrophy. *Circ Res* 1991a; 69:52-8

Liu Z., Hilbelink DR, Crockett WB, Gerdes AM. Regional changes in hemodynamics and cardiac myocyte size in rats with aortocaval fistulas. 2. Long-term effects. *Circ Res* 1991b; 69:59-65

Liu SK, Magid NR, Fox PR, Goldfine S, Borer J. Fibrosis, myocyte degeneration and heart failure in chronic experimental aortic regurgitation. *Cardiol* 1998; 90:101-9

Magid NM, Wallerson DC, Borer JS, Mukherjee A, Young MS, Devereux RB, et al. Left ventricular diastolic and systolic performance during chronic experimental aortic regurgitation. *Heart Circ Physiol* 1992; 263: H226-33

Mann DL. Mechanisms and models in heart failure. *Circulation* 1999; 100:999-1008

Maron BJ, Ferran V, Roberts EC. Myocardial ultrastructure in patients with chronic aortic disease. *Am J Cardiol* 1975; 35:725-39

Martins AS, Aguilera NW, Matsubara BB, Bregagnollo EA. Experimental myocardial hypertrophy induced by a minimally invasive ascending aorta coarctation. *Braz J Med Biol Res* 2001; 34: 413-5

Masaki H, Imaizumi T, Ando S, Yoshitaka H, Harada S, Momohara M, et al. Production of chronic congestive heart failure by rapid ventricular pacing in the rabbit. *Cardiovasc Res* 1993; 27: 828-31

Masoudi FA, Havranek EP, Krumholz HM. The burden of chronic congestive heart failure in older persons: magnitude and implications for policy and research. *Heart Fail Rev* 2002;7:9-16

Massie BM, Shah NB. Evolving trends in the epidemiologic factors of heart failure: rationale for preventive strategies and comprehensive disease management. *Am Heart J* 1997;133:703-12

Mohammadi K, Rouet-Benzineb P, Laplace M, Crozatier B. Protein kinase C activity and expression in rabbit left ventricular hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 1997; 29: 1687-94

Muders F, Friedrich E, Luchner A, Pfeifer M, Ickenstein G, Hamelbeck B, et al. Hemodynamics changes and neurohumoral regulation during development of congestive heart failure in a model of epinephrine-induced cardiomyopathy in conscious rabbits. *J Card Failure* 1999; 5:109-16

Muders F, Elsner D. Animals models of chronic heart failure. *Pharmacol Res* 2000; 41: 605-12

Myreng Y, Smiseth OA. Assessment of left ventricular relaxation by Doppler echocardiography: Comparison of isovolumic relaxation time and transmitral flow velocities with time constant of isovolumic relaxation. *Circulation* 1990; 81:260-6

Noshiro T, Way D, Miura Y, McGrath BP. Enalapril restores sensitivity of baroreflex control of renal and total noradrenaline spillover on heart failure rabbit. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1993; 20: 373-6

Oldershaw PJ, Brooksby IAB, Davies MJ, Coltart DJ, Jenkins BS, Weeb-Peploe MM: Correlation of fibrosis in endomyocardial biopsies from patients with aortic valve disease. *Br Heart J* 1980; 44: 609-611

Olivetti G, Abbi R, Quaini F, Kajstura J, Cheng W, Nitahara JA, et al. Apoptosis in the failing human heart. *N Engl J Med* 1997;336:1131-41

Opie LH. Heart failure and neurohumoral responses. In Opie LH. (Ed.) *The Heart: physiology, from cell to circulation*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, 1998; 475-511

Parmley WW. Evolution of angiotensin-converting enzyme inhibition in hypertension, heart failure, and vascular protection. *Am J Med* 1998; 105:27S-31S

- Pfeffer MA, Pfeffer JM, Fishbein MC, Fletcher PJ, Spadaro J, Kloner RA, et al. Myocardial infarct size and ventricular function in rats. *Circ Res* 1979; 44: 503-12
- Pye MP, Black M, Cobbe SM. Comparison of in vivo and in vitro hemodynamic function in experimental heart failure: use of echocardiography. *Cardiovasc Res* 1996; 31:873-81
- Sagawa K, Suga H, Shoukas AA, Bakalar KM. End-systolic pressure/volume ratio: A new index of ventricular contraction. *Am J Physiol* 1977; 40:748-53
- Simões VC, Marques F, O'Connell JL. Diagnóstico, Classificação e Avaliação Prognóstica da Insuficiência Cardíaca. In: Nobre F, Serrano CV. *Tratado de Cardiologia SOCESP*. Barueri, SP: Manole Ltda; 2005. p. 750-61
- Smith HJ, Nuttall A. Experimental models of heart failure. *Cardiovasc Res* 1985; 19:181-6
- Smucker ML, Manning SB, Stuckey TD, Tyson DL, Nygaard TW, Kron JL. Preoperative left ventricular wall stress, ejection fraction, and aortic valve gradient as prognostic indicators in aortic valve stenosis. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1989; 17:133-143
- Sociedade Brasileira de Cardiologia. Revisão da II Diretrizes da Sociedade Brasileira de Cardiologia para o diagnóstico e tratamento da insuficiência cardíaca. *Arq Bras Cardiol* 2002; 79 (Suplemento IV) 1-30
- Sparrow P, Messroghli DR, Reid S, Ridgway JP, Bainbridge G, Sivananthan MU. Myocardial T1 mapping for detection of left ventricular myocardial fibrosis in chronic aortic regurgitation: pilot study. *AJR Am J Roentgenol* 2006 ;187:W630-5
- Suga H. Total mechanical energy of a ventricular model and cardiac oxygen consumption. *Am J Physiol* 1979; 236: H498-505
- Suga H. Ventricular energetics. *Physiol Rev* 1990; 70:247-77
- Tombe PP, Jones S, Burkhoff D, Hunter WC, Mass DA. Ventricular stroke work and efficiency both remain nearly optimal despite altered vascular loading. *Am J Physiol* 1993; 264:H1817-24
- Vartner DE, Vartner SF, Fujii AM, Homcy CJ. Loss of high affinity beta-adrenergic receptors in dogs with heart failure. *J Clin Invest* 1985; 76; 2259-64

Walther T, Falk V, Binner C, Losher N, Schubert A, Rauch T, et al. Experimental aortic stenosis and corresponding left ventricular hypertrophy in sheep. *J Invest Surg* 2000; 13: 327-31

Yacoub MH: A novel strategy to maximize the efficacy of left ventricular assist devices as a bridge to recovery. *Eur Heart J* 2001; 22:534-40



ANEXOS



Universidade Estadual de Campinas
Instituto de Biologia



CEEAB-IB-UNICAMP

Comissão de Ética na Experimentação Animal
CEEAB-IB-UNICAMP

CERTIFICADO

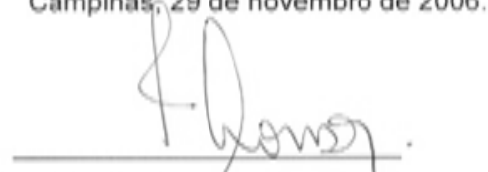
Certificamos que o Protocolo nº 1146-1, sobre "Desenvolvimento de modelo experimental de insuficiência cardíaca em coelhos", sob a responsabilidade de Prof. Dr. Orlando Petrucci Jr. / Karlos Alexandre de Sousa Vilarinho, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), tendo sido aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEAB)-IB-UNICAMP em reunião de 29 de novembro de 2006.

CERTIFICATE

We certify that the protocol nº 1146-1, entitled "Development of experimental model of cardiac failure in rabbits", is in agreement with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian College for Animal Experimentation (COBEA). This project was approved by the institutional Committee for Ethics in Animal Research (State University of Campinas - UNICAMP) on November 29, 2006.

Campinas, 29 de novembro de 2006.


Profa. Dra. Ana Maria A. Guaraldo
Presidente


Fátima Alonso
Secretária Executiva

APÊNDICES

Dados dos experimentos

Grupo	Peso Inicial	Peso VE	Peso Final	Peso VE/Coelho	FC	VDF	VSF
Controle	3,0	4,5	4,4	0,10	179,27	1,18	0,77
Controle	5,0	4,7	4,5	0,10	172,79	1,31	0,62
Controle	2,7	4,4	4,0	0,11	139,50	1,71	1,50
Controle	2,0	4,8	4,0	0,12	227,24	1,23	0,87
Controle	3,2	4,0	3,6	0,11	155,90	2,00	1,30
Controle	3,2	4,2	5,2	0,08	133,40	1,81	1,38
Controle	3,0	5,6	5,0	0,11	140,50	3,97	3,03
Controle	3,0	3,5	4,0	0,09	144,40	2,30	1,60
Controle	2,9	4,6	4,6	0,10	213,00	2,30	1,60
Controle	3,0	4,1	4,1	0,10	133,40	2,60	1,90
Controle	3,0	5,6	5,2	0,11	165,40	3,00	2,00
Estenose	2,5	4,5	4,0	0,11	151,40	3,18	2,62
Estenose	3,0	5,9	4,3	0,14	150,07	3,16	2,50
Estenose	3,0	7,2	4,7	0,15	174,28	3,25	2,64
Estenose	3,0	7,9	4,0	0,20	180,20	3,79	3,06
Estenose	3,0	5,5	4,0	0,14	147,90	1,89	1,48
Estenose	3,0	5,2	4,0	0,13	163,41	2,55	1,82
Estenose	3,4	5,3	4,0	0,13	158,93	1,62	0,99
Estenose	3,1	4,5	3,7	0,12	174,88	1,52	1,00
Estenose	3,0	4,6	4,0	0,12	186,91	1,77	1,08
Estenose	3,0	5,6	4,1	0,14	198,80	2,30	1,60
Estenose	3,0	4,9	4,0	0,12	186,90	1,90	1,20
Estenose	3,0	5,4	3,9	0,14	147,00	1,32	0,94
Estenose	3,5	4,7	4,1	0,11	125,30	2,26	1,45
Estenose	3,5	3,9	4,0	0,10	203,40	2,11	1,34
Estenose	4,0	4,3	4,2	0,10	143,90	2,37	1,58
Estenose	3,2	4,2	3,5	0,12	182,20	1,72	1,33
Estenose	3,0	6,2	4,5	0,14	164,70	4,50	3,55
Insuficiência	4,0	4,8	4,0	0,12	213,91	1,37	0,90
Insuficiência	4,0	7,0	4,3	0,16	266,61	3,27	2,54
Insuficiência	3,5	8,1	4,0	0,20	164,00	5,88	3,57
Insuficiência	3,2	6,6	4,4	0,15	164,40	5,17	3,61
Insuficiência	3,2	7,4	4,5	0,16	162,60	6,94	5,65
Insuficiência	3,1	5,5	4,0	0,14	177,60	2,87	2,03
Insuficiência	3,0	4,6	4,1	0,11	193,90	2,80	1,83
Insuficiência	3,0	4,4	3,2	0,14	178,50	2,56	1,83
Insuficiência	3,0	5,9	3,2	0,18	144,22	3,33	2,25
Insuficiência	3,0	7,1	4,5	0,16	231,09	3,72	2,73
Insuficiência	3,0	5,3	4,0	0,13	234,46	2,64	2,07
Insuficiência	3,1	5,4	4,0	0,14	152,57	3,31	2,46
Insuficiência	3,0	4,8	4,0	0,12	172,40	2,77	2,01
Insuficiência	3,0	7,4	4,0	0,19	157,30	6,55	5,34
Insuficiência	3,0	6,1	3,5	0,17	179,44	2,10	1,33
Insuficiência	3,0	9,0	4,0	0,23	182,62	5,59	3,75
Insuficiência	3,0	5,2	4,3	0,12	203,30	2,66	2,06
Insuficiência	3,2	6,5	3,8	0,17	149,12	4,93	3,68

Dados dos experimentos

Grupo	Pressão Min	Pressão Max	dP/dT Max	dP/dT min	V Ejetado	DC	FE
Controle	4,74	61,80	1416,00	-861,00	0,26	0,05	75,61
Controle	10,50	86,68	1392,00	-1177,00	0,42	0,07	64,90
Controle	7,60	48,80	490,55	-358,80	0,18	0,03	89,46
Controle	8,61	80,61	1391,00	-1037,00	0,29	0,00	75,24
Controle	8,80	70,70	1375,00	-916,00	0,60	0,10	68,00
Controle	5,20	55,40	995,00	-679,00	0,40	0,05	77,72
Controle	6,40	99,10	2834,00	-2513,00	0,74	0,10	80,38
Controle	7,50	82,60	2159,30	-1889,90	0,70	0,10	71,30
Controle	5,60	76,60	2763,70	-2374,70	0,60	0,13	72,60
Controle	5,30	91,70	2406,40	-1994,10	0,50	0,07	79,30
Controle	7,30	93,70	1638,30	-1486,40	0,40	0,07	84,00
Estenose	6,60	57,20	977,00	-791,00	0,51	0,08	83,64
Estenose	9,01	82,11	1122,62	-1035,97	0,55	0,08	82,10
Estenose	7,33	74,91	1002,50	-873,17	0,52	0,09	83,54
Estenose	6,60	100,10	1639,00	-1680,00	0,46	0,08	87,57
Estenose	3,30	82,00	1301,00	-1041,00	0,34	0,05	81,94
Estenose	6,79	78,25	1417,36	-954,40	0,55	0,09	78,07
Estenose	5,67	91,05	1821,37	-1399,37	0,40	0,06	74,98
Estenose	6,01	90,11	1606,89	-1139,64	0,44	0,08	70,68
Estenose	13,92	53,86	767,70	-398,99	0,55	0,10	68,30
Estenose	5,60	81,40	2001,67	-1088,97	0,50	0,10	77,60
Estenose	7,50	75,00	1449,40	-1085,60	0,60	0,10	70,70
Estenose	5,50	82,80	1709,00	-1190,00	0,30	0,04	76,58
Estenose	7,20	70,50	1178,00	-905,00	0,59	0,07	72,21
Estenose	8,20	92,10	2190,00	-1598,00	0,48	0,10	74,94
Estenose	6,60	75,40	1426,00	-1085,00	0,61	0,09	73,11
Estenose	5,30	97,80	1753,00	-1424,00	0,32	0,06	80,80
Estenose	6,20	106,50	2727,00	-2515,00	0,76	0,12	82,42
Insuficiência	11,90	73,12	1453,00	-808,00	0,46	0,10	66,08
Insuficiência	16,90	107,91	1936,09	-1545,41	0,63	0,17	80,21
Insuficiência	19,00	84,30	2693,65	-1819,77	2,10	0,34	63,39
Insuficiência	2,70	71,60	1131,00	-874,00	1,48	0,24	71,39
Insuficiência	8,10	91,80	1218,00	-1170,00	1,04	0,17	84,46
Insuficiência	7,20	73,40	1080,00	-912,00	0,40	0,07	84,21
Insuficiência	6,60	81,80	1841,00	-1441,00	0,49	0,10	80,26
Insuficiência	16,30	71,00	834,00	-763,00	0,59	0,11	75,59
Insuficiência	9,03	81,85	1430,43	-1477,82	0,81	0,12	73,55
Insuficiência	7,18	89,08	1637,59	-1337,54	0,91	0,21	75,22
Insuficiência	7,58	67,02	1409,61	-1114,00	0,40	0,09	84,02
Insuficiência	6,79	90,33	1196,63	-1254,38	0,63	0,10	79,50
Insuficiência	7,30	78,40	1422,05	-1209,41	0,55	0,10	78,41
Insuficiência	12,10	82,80	778,00	-1230,00	0,57	0,09	90,36
Insuficiência	4,14	61,14	1193,34	-828,59	0,68	0,12	67,32
Insuficiência	7,60	76,08	1067,70	-1060,42	1,60	0,29	70,44
Insuficiência	3,80	66,20	1692,00	-1190,00	0,27	0,06	88,56
Insuficiência	2,94	72,66	1008,00	-993,00	0,86	0,13	81,36

Dados dos experimentos

Grupo	SS	SW	Tau	E _{max}	EDPVR	PSRW	Lateral	Septo
Controle	8,91	9,25	59,32	133,92	0,92	34,29	4,82	3,98
Controle	13,30	41,74	36,60	239,96	0,51	76,60	4,61	3,86
Controle	3,80	6,00	233,30	55,86	1,26	5,63	5,01	4,10
Controle	10,30	19,68	61,72	178,03	2,27	23,00	4,81	4,02
Controle	12,60	29,50	45,20	133,03	0,40	46,80	6,72	5,55
Controle	8,10	18,00	55,10	157,20	1,02	35,01	6,36	4,83
Controle	7,00	75,10	40,70	67,04	0,55	49,09	4,89	4,20
Controle	10,80	46,00	37,80	75,15	0,72	49,52	4,79	3,93
Controle	10,30	39,10	34,20	121,83	0,64	47,66	4,03	3,74
Controle	7,50	47,70	44,80	118,07	0,53	51,06	3,06	2,77
Controle	5,70	61,50	44,90	88,12	0,48	39,27	3,99	2,84
Estenose	6,10	19,40	100,50	36,29	5,03	41,48	7,27	4,44
Estenose	6,41	36,09	71,16	51,54	1,44	39,13	5,44	5,11
Estenose	5,82	25,81	64,30	51,18	0,86	14,38	7,34	6,84
Estenose	4,40	57,90	34,70	78,19	1,18	64,19	7,30	7,20
Estenose	8,00	26,50	90,60	102,12	0,88	40,53	6,76	4,89
Estenose	7,90	44,62	49,38	64,55	0,91	40,60	6,29	5,80
Estenose	9,20	38,28	36,85	143,24	0,66	43,95	4,96	6,53
Estenose	10,90	33,06	82,93	120,34	0,81	55,04	5,11	5,42
Estenose	11,90	11,02	70,58	172,97	1,17	18,29	6,22	5,72
Estenose	8,50	42,50	72,80	74,22	0,45	40,95	5,78	4,96
Estenose	10,90	39,00	43,90	94,27	0,59	41,87	5,78	5,63
Estenose	8,60	24,10	59,80	170,00	0,59	43,65	5,84	4,51
Estenose	10,30	44,70	47,40	105,92	1,02	61,64	5,60	4,82
Estenose	9,50	55,10	43,10	56,01	0,95	47,11	6,32	4,65
Estenose	10,00	47,30	48,80	71,88	0,46	39,26	4,68	4,31
Estenose	7,20	31,70	48,00	117,64	0,40	51,45	5,76	4,71
Estenose	6,20	83,20	22,10	40,88	0,34	48,87	5,65	4,17
Insuficiência	13,30	13,42	75,91	190,59	0,65	17,74	5,40	4,70
Insuficiência	7,10	39,54	48,38	71,92	1,70	39,65	5,21	4,63
Insuficiência	14,10	149,70	25,40	40,43	0,33	39,81	5,59	4,77
Insuficiência	10,60	88,00	114,30	19,84	2,36	129,38	5,59	4,37
Insuficiência	6,20	78,50	67,60	30,41	1,97	126,99	6,52	4,83
Insuficiência	5,60	47,10	56,20	55,33	0,45	23,65	4,78	5,68
Insuficiência	7,10	61,30	44,90	51,79	0,85	59,29	6,18	5,07
Insuficiência	10,10	25,00	76,00	52,64	0,68	38,06	5,39	4,68
Insuficiência	9,70	56,34	33,14	38,14	0,58	54,11	6,11	4,97
Insuficiência	9,10	62,29	63,09	109,30	0,26	27,25	4,34	5,89
Insuficiência	5,60	28,98	44,30	125,90	0,74	30,47	6,31	4,64
Insuficiência	7,40	51,80	123,73	47,65	0,33	35,84	5,31	3,92
Insuficiência	7,80	38,80	36,60	73,52	2,13	81,01	5,22	4,65
Insuficiência	3,60	58,30	46,40	28,07	0,28	33,55	5,30	4,34
Insuficiência	12,40	29,37	41,97	141,27	1,85	36,11	5,01	5,49
Insuficiência	11,00	76,19	41,00	39,96	0,64	33,18	4,89	5,13
Insuficiência	3,90	31,00	44,50	50,21	0,95	43,79	4,36	3,14
Insuficiência	6,90	69,72	63,21	25,52	1,42	41,21	6,23	3,74

Dados dos experimentos

Grupo	PVA	PE	Fibrose/Tecido
Controle	24,98	15,73	0,39
Controle	63,66	20,80	0,42
Controle	73,20	17,23	0,35
Controle	52,20	24,03	1,50
Controle	41,32	12,88	0,65
Controle	24,91	6,67	0,48
Controle	85,38	8,44	0,16
Controle	84,18	35,09	0,18
Controle	58,66	18,24	0,05
Controle	91,78	39,27	0,04
Controle	95,24	30,28	0,08
Estenose	67,88	44,35	8,36
Estenose	89,02	49,56	5,00
Estenose	64,39	34,33	15,08
Estenose	98,90	34,60	5,82
Estenose	58,40	23,20	6,16
Estenose	64,10	19,40	2,11
Estenose	47,40	9,50	3,40
Estenose	42,60	11,70	2,49
Estenose	21,60	10,70	3,71
Estenose	50,70	11,70	6,89
Estenose	47,30	7,90	6,33
Estenose	67,45	25,66	3,35
Estenose	59,20	13,00	3,21
Estenose	85,40	25,70	2,26
Estenose	75,60	27,00	3,86
Estenose	57,70	23,20	18,81
Estenose	149,20	64,80	3,77
Insuficiência	24,70	12,10	2,27
Insuficiência	112,60	78,70	2,51
Insuficiência	151,50	71,00	2,03
Insuficiência	170,60	79,90	3,27
Insuficiência	284,30	194,60	8,38
Insuficiência	81,90	32,30	3,40
Insuficiência	89,80	25,00	1,25
Insuficiência	76,00	44,40	0,53
Insuficiência	126,10	71,30	2,48
Insuficiência	85,80	27,20	1,85
Insuficiência	49,30	12,30	3,34
Insuficiência	121,40	70,70	1,88
Insuficiência	84,10	45,50	1,05
Insuficiência	223,30	160,60	0,35
Insuficiência	39,20	10,10	2,55
Insuficiência	164,80	97,20	2,65
Insuficiência	65,90	31,80	0,44
Insuficiência	141,02	124,19	0,57